



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS

EFECTO DE LA TEMPERATURA E IRRADIANCIA EN LA
LIBERACIÓN, SOBREVIVENCIA Y FIJACIÓN DE ESPORAS DE
Gracilaria pacifica ABBOTT (RHODOPHYTA), DEL ESTERO DE
PUNTA BANDA, B.C.

TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
**MAESTRO EN CIENCIAS
EN OCEANOGRAFÍA COSTERA**

P R E S E N T A

Fernando Garza Sánchez

Ensenada, B.C. mayo de 1997

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS

**EFFECTO DE LA TEMPERATURA E IRRADIANCIA EN LA
LIBERACIÓN, SOBREVIVENCIA Y FIJACIÓN DE ESPORAS DE
Gracilaria pacifica ABBOTT (RHODOPHYTA), DEL ESTERO DE
PUNTA BANDA, B.C.**

**TESIS DE MAESTRÍA
QUE PRESENTA:**

FERNANDO GARZA SÁNCHEZ

APROBADA POR:



Presidente del Jurado
Dr. José A. Zertuche González

Sinodal propietario
Dr. David. J. Chapman



Sinodal propietario
M. en C. Isai Pacheco Ruiz

DEDICATORIA

A mi madre, porque seguimos continuando sus sueños. A mis abuelos por todo lo que les debo y porque siguen creyendo en mí. A mis hermanos y sobrinos porque seguimos unidos.

A Laura porque a pesar de todo continua conmigo.

AGRADECIMIENTOS

A mi director de tesis Dr. José A. Zertuche González, por el apoyo que me ha brindado durante mi estancia en el posgrado. El cual inicio con una beca, desde mi llegada a Ensenada. Y posteriormente por dar la idea general de la tesis, así como las facilidades para llevar a cabo tal proyecto. Por el aporte que ha dado al escrito de la tesis. Y además por permitirme participar en otros proyectos a su cargo. José gracias.

También quiero agradecer al Dr. David J. Chapman, el cual me apoyó con una beca del Pacific Rim, que me permitió llevar a cabo el trabajo experimental, así como poder asistir a cursos. Y por aceptar estar en mi comite de tesis.

Al M. en C. Isaí Pacheco Ruíz, el cual me ha apoyado desde mi llegada a Ensenada, con material logístico. Y con el cual he podido discutir varias ideas e inquietudes. Pero en particular por el tiempo y la dedicación que puso en la revisión y reestructuración del escrito de la tesis.

A la beca-tesis de CONACYT, que me permitió haber cursado el posgrado. Y al Instituto de Investigaciones Oceanológicas por permitirme hacer uso de sus instalaciones.

Es muy significativo para mi, hacer mención de las personas que me apoyaron en la parte experimental de la tesis. A la Oc. Angélica Alarcón Aragón, M. en C. Marco Aurelio González Gómez, P. Oc. Alejandro Rodríguez Guido. Las sugerencias de varios experimentos que me dió el M. en C. Zúñiga García Esquivel. Así como las veces que me acompañaron al campo la Sra. María de Jesús Alamilla Labastida, el Oc. José Guzmán y el Biól. Alberto Gálvez Télles.

En mis primeros días en Ensenada, tuve el apoyo de hospedaje y recorridos a la ciudad de Sergio Flores y Hector Reyes. Y con el primero las pachangas más padres que he vivido.

También quiero agradecer a mis compañeros de laboratorio, Instituto, Facultad y clases, los cuales han hecho más grata la estancia en el posgrado. Lorena Ríos, Alejandra de la Mora, Lydia Ladah, Daniel, Enrique Hernández Garibay, Laura Chanes, Lucía Villegas, Lalo, "Tex", Billy, J. Angel Chavez, El Beto, Mtra. Guadalupe García Lepe, Mtro. Guillermo Ballesteros Grijalva, Victor Zavala, Jazmín Barajas, Coloncho, Rafael Bermudez Zavala...etc. A Angélica por su continua disposición a

resolver todos los problemas de trámites de documentación. A Margarito por la prontitud en el sacado de copias. Así como a Ramón Moreno por sus amenas pláticas y por siempre estar dispuesto a darme "aventones".

Y finalmente, quiero agradecer de manera especial a la Biól. Laura E. Zizumbo Alamilla, quién me ha apoyado en gran parte del trabajo de laboratorio y en todo el escrito. Y me ha enseñado que todo depende del cristal con que se mire. Gracias.

Y al pueblo de México, que da las oportunidades de estudiar y superarse.

ÍNDICE

	Páginas
INTRODUCCIÓN.....	1
METODOLOGÍA.....	6
Liberación y fijación:	6
Liberación diurna:	9
Sobrevivencia:	9
I).- Estacional:	9
II).- Invierno:.....	10
Tamaño:.....	11
Análisis estadístico:	11
RESULTADOS.....	12
Liberación:	12
Liberación diurna:	14
Sobrevivencia:	16
I).- Estacional:	16
II).- Invierno:	21
Fijación:	24
DISCUSIÓN	29
Liberación:	29
Liberación diaria:	32
Liberación diurna:	32
Sobrevivencia:	33
Fijación:	36
Tamaño:.....	37
Propuesta para la liberación y fijación controlada de esporas de <u>Gracilaria pacifica</u> :	37
CONCLUSIONES:.....	40
BIBLIOGRAFÍA	41

ÍNDICE DE TABLAS

	Páginas
Table I: Análisis de KW de tres vías de la liberación de tetrasporas.	12
Table II: ANOVA de dos vías de la liberación de tetrasporas sin incluir Temperatura.	12
Table III: Análisis de KW de tres vías de la liberación de carposporas.	14
Table IV: ANOVA de dos vías de la liberación de carposporas sin incluir irradiancia.	14
Table V: ANOVA de dos vías de la liberación de carposporas sin incluir Mes.	14
Table VI: Análisis de dos vías de KW de la liberación diurna de tetrasporas.	16
Table VII: Análisis de dos vías de KW de la liberación diurna de carposporas.	16
Table VIII: Análisis KW de tres vías de la sobrevivencia estacional de tetrasporas. ...	19
Table IX: ANOVA de dos vías de la sobrevivencia estacional de tetrasporas sin incluir irradiancia.	19
Table X: Análisis KW de tres vías de la sobrevivencia estacional de carposporas. ...	21
Table XI: Análisis KW de dos vías de la sobrevivencia estacional de carposporas sin incluir la irradiancia.	21
Table XII: Análisis KW de dos vías de la sobrevivencia de tetrasporas en noviembre.	21
Table XIII: Análisis KW de dos vías de la sobrevivencia de carposporas en enero.	21
Table XIV: Análisis KW de cuatro vías del porcentaje de fijación de tetrasporas.	24
Table XV: ANOVA de dos vías usando el promedio de la fijación de tres días de tetrasporas, sin incluir los factores Días e Irradiancia.	24
Table XVI: Análisis KW de cuatro vías del porcentaje de fijación de carposporas.	26
Table XVII: ANOVA de dos vías usando el promedio de la fijación hasta el tercer día de carposporas, sin incluir los factores Mes y Días.	26

ÍNDICE DE FIGURAS

	Páginas
Fig. 1: Zona de colecta de <u>Gracilaria pacifica</u>	7
Fig. 2: Número de tetrasporas liberadas en seis días, por gramo de tejido húmedo. La mayor liberación se dió en octubre, con un efecto directo de la irradiancia. Cada punto representa la media y las barras el error estandard.	13
Fig. 3: Número de carposporas liberadas en seis días, por gramo de tejido húmedo. Existió un efecto de interacción temperatura-mes, donde la temperatura afecta a la liberación en febrero. Cada punto representa la media y las barras el error estandard.....	13
Fig. 4: Liberación diaria de tetrasporas. Cada punto representa la media de las esporas liberadas por gramo de tejido húmedo de los nueve tratamientos por día. F Rep1: Febrero repetición 1. F Rep2: Febrero repetición 2. O Rep1: Octubre repetición 1. O Rep2: Octubre repetición 2.....	15
Fig. 5: Liberación diaria de carposporas. cada punto representa la media de las esporas liberadas por gramo de tejido húmedo de los nueve tratamientos por día. F Rep1: Febrero repetición 1. F Rep2: Febrero repetición 2. O Rep1: Octubre repetición 1. O Rep2: Octubre repetición 2.....	15
Fig. 6: Liberación diurna de tetrasporas por gramo de tejido húmedo a 3 irradiancias. La mayor liberación se da a la mayor irradiancia. La parte obscura de la gráfica, representa las horas de la noche. Cada punto muestra la mediana de las dos repeticiones.	17
Fig. 7: Liberación diurna de tetrasporas por repetición. La menor liberación se dió al amanecer. La parte obscura de la gráfica, representa las horas de la noche. Cada punto de la gráfica señala el promedio de la liberación de las 3 irradiancias.	17
Fig. 8: Liberación diurna de carposporas por repetición. La liberación del 13 de abril, presentó su mayor a media noche, a diferencia de las otras dos repeticiones. La parte obscura de la gráfica, representa las horas de la noche. Cada punto muestra el promedio de la liberación de las tres irradiancias.	18
Fig. 9: Liberación diurna de carposporas a 3 irradiancias para la repetición del 11 de abril y 8 de junio. La mayor liberación se dió a mediodía. La parte obscura de la gráfica, representa las horas de la noche. Los puntos muestran la mediana de las dos repeticiones.	18
Fig. 10: Variación del porcentaje de la sobrevivencia de tetrasporas estacionalmente, a un gradiente de temperatura. Cada punto representa la media y las barras el error estandard.	20
Fig. 11: Variación del porcentaje de sobrevivencia de carposporas estacionalmente, aun gradiente de temperatura. Cada punto representa la mediana y las barras el intervalo del 25 y 75% de los datos.	20
Fig. 12: Porcentaje de sobrevivencia de tetrasporas a los 60 días (28 de noviembre). Cada punto representa la mediana.	22
Fig. 13: Porcentaje de sobrevivencia de carposporas a los 60 días (12 de enero). Cada punto representa la mediana.	22
Fig. 14: Variación semanal de la sobrevivencia de las tetrasporas, a 4 temperaturas. Los puntos representan el promedio del porcentaje de sobrevivencia a las 4 irradiancias (ya que este factor no mostró un efecto significativo).	23

- Fig. 15: Variación semanal de la sobrevivencia de las carposporas, a 4 temperaturas. Los puntos representan el promedio del porcentaje de sobrevivencia a las 4 irradiancias (ya que este factor no mostró un efecto significativo). 23
- Fig. 16: Porcentaje de fijación de tetrasporas en febrero y octubre, a un gradiente de temperatura. Una significativa mayor fijación se dió en octubre, con un efecto directo de la temperatura. Cada punto representa la media y las barras el error estandar..... 25
- Fig. 17: Porcentaje de fijación de carposporas en febrero y octubre, a un gradiente de irradiancia. La fijación fue inversamente proporcional a la irradiancia. Cada punto representa la media y las barras el error estandar. 25
- Fig. 18: Porcentaje de fijación diaria de tetrasporas. Cada punto representa el promedio de fijación de todos los tratamientos por día. F Rep1: Febrero repetición 1. F Rep 2: Febrero repetición 2. O Rep1: Octubre repetición 1. O Rep2: Octubre repetición 2. 27
- Fig. 19: Porcentaje de fijación diaria de carposporas. Cada punto representa el promedio de la fijación de todos los tratamientos por día. F Rep1: Febrero réplica 1. F Rep2: Febrero réplica 2. O Rep1: Octubre repetición 1. O Rep2: Octubre repetición 2. 27
- Fig. 20: Diámetro de las tetrasporas y carposporas en diferentes meses. C= Carposporas. T= Tetrasporas. Y la fecha de la liberación de las esporas medidas.28
- Fig. 21: Diagrama de flujo para la propuesta de la liberación y fijación controlada de esporas de Gracilaria pacifica. 39

RESUMEN

Se analizó la variación del porcentaje de sobrevivencia (estacional) y la liberación y fijación (febrero vs octubre) de tetrasporas y carposporas de Gracilaria pacifica del Estero de Punta Banda, B.C. bajo un gradiente de temperatura e irradiancia. La sobrevivencia fue principalmente regulada por la estación del año. De primavera a otoño ambos tipos de esporas se comportaron de manera similar, con la mayor sobrevivencia en otoño y la mínima en verano sin embargo, en invierno las tetrasporas tuvieron su máxima sobrevivencia mientras las carposporas la mínima. En el gradiente de temperatura, los mayores valores de sobrevivencia se dieron entre 20-25°C y a 15°C fueron cercanos a cero. La liberación en tetrasporas fue directamente afectada por la irradiancia e incluso dio inicio a un comportamiento diurno; en cambio en carposporas la temperatura fue el factor principal en regular esta variable. En la liberación diaria los máximos se obtuvieron entre el día tres y cinco para ambos tipos de esporas. En experimentos de liberación diurna, las tetrasporas tuvieron su máximo al inicio de la noche (16-20 hr) y las carposporas al atardecer (12-16 hr). La fijación en tetrasporas fue directamente afectada por la temperatura, sin tener un efecto la irradiancia, en cambio en carposporas un comportamiento inversamente proporcional con la irradiancia afectó la fijación. El diámetro promedio de las tetrasporas fue de $26.59 \pm 1.76 \mu\text{m}$ y el de carposporas de $28.90 \pm 2.49 \mu\text{m}$. Tales diferencias entre tetrasporas y carposporas sugieren un diferente comportamiento ecofisiológico en el medioambiente para permanecer y competir la especie.

Palabras clave: Gracilaria pacifica, tetrasporas, carposporas, liberación, sobrevivencia, fijación, temperatura, irradiancia.

ABSTRACT

The survival (seasonal), release and attachment (february vs october) of tetraspores and carpospores of Gracilaria pacifica Abbott was studied in a gradient of temperature and irradiance. The survival was affected mainly by seasons. From spring to fall, both types of spores behaved similarly, with the lowest in summer and greater in autumm. However in winter, tetraspores had the greatest survival while carpospores the lowest. Greatest survival was between 20-25°C and at 15°C survival was close to zero for both spore types. Tetraspore release was affected directly by irradiance, and showed a diurnal behaviour, while carpospore release was affected by temperature. During daily spore release, greatest spore concentrations were obtained between third and fifth day for both spore types. In diurnal spore release experiments, tetraspores showed maximum release in the early evening (16-20 hr) while carpospores showed maximum release in the afternoon (12-16 hr). Tetraspore attachment was directly affected by temperature and showed no effect due to irradiance. Carpospore attachment showed an inverse proportional behaviour with irradiance. The mean diameter for tetraspores was $26.59 \pm 1.76 \mu\text{m}$ and for carpospores was $28.90 \pm 2.49 \mu\text{m}$. These differences between tetraspores and carpospores, suggest a different ecophysiological behaviour to survive and compete interspecifically in nature.

Key words: Gracilaria pacifica, tetraspores, carpospores, release, survival, attachment, temperature, irradiance.

INTRODUCCIÓN

El aumento en el consumo de agar a nivel mundial y la sobreexplotación de mantos naturales de Gracilaria en Chile (principal productor de agar a nivel mundial de Gracilaria), a llevado al desarrollo de cultivos comerciales de este género, el cual es conocido por sus altas tasas de crecimiento y buena calidad de gel (Avila-Lagos et al. 1994). Lo anterior, ha originado el interés por el cultivo en otros países como México, en donde se ha iniciado la explotación de mantos de Gracilaria en el Golfo de California y el Pacífico de Baja California así como cultivos piloto de Gracilaria pacifica Abbott en Baja California (Pacheco-Ruíz, 1996. Com. pers. *; Zertuche-González, 1994; Zertuche-González y García-Ezquivel, 1994). Estos últimos, son llevados a cabo con una técnica chilena de cultivo en cuerdas, la cual presenta el inconveniente de ocasionar gran pérdida de plantas por desprendimiento. Además, su siembra depende de las algas recolectadas del medio, lo que implica una considerable mano de obra para su mantenimiento.

Una técnica alternativa es el cultivo por esporas, la cual a sido practicada en Porphyra desde el siglo XV en países orientales (Miura, 1975). Actualmente se esta aplicando con éxito en algunas especies de algas verdes (Ohno, 1993; Trono y Toma, 1993), cafés (Kawashima, 1993; Ohno y Matsuoka, 1993; Toma, 1993) y rojas (Oohusa, 1993), incluyendo a Gracilaria chilensis Bird, McLachlan, Oliveira (Avila et al., 1994). Sus principios parten del conocimiento y la optimización de la primera fase de vida del alga, que persigue entre otros aspectos, reducir la mortalidad, obtener los mayores porcentajes de fijación, germinación y crecimiento en las primeras etapas, la multiplicación de un genoma seleccionado y la disposición de plántulas todo el año (Romo Donoso, 1988). Para alcanzar tal fin,

es necesario conocer el comportamiento anual de la biología de la espora y su germinación, así como los principales factores medioambientales que la favorecen.

Gracilaria pacifica es un alga roja perenne, de importancia económica en la Península de Baja California (Aguilar-Rosas et al., 1993; Aguilar-Rosas y Aguilar-Rosas, 1994). En cultivos experimentales en el campo, se han obtenido rendimientos en otoño de $5 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-2}$ (Zertuche-González y García-Ezquivel, 1994).

Existen pocos trabajos relacionados con la biología reproductiva de G. pacifica. En British Columbia, Canadá, se encontró el mayor porcentaje de gametofitos y tetrasporofitos en julio (Whyte et al., 1981). De la misma manera, en el Estero de Punta Banda, en Baja California, México se han reportado plantas con estructuras reproductoras todo el año, con una mayor proporción de tetraspóricas y cistocárpicas en verano y menor en invierno; y sólo algunos talos masculinos en noviembre y enero (Aguilar-Rosas et al., 1993). Este desbalance en la proporción entre tetrasporofitos y carposporofitos, se estudió por Pacheco-Ruíz y colaboradores (1993) donde se revisó el efecto del sustrato duro en la presencia de plantas cistocárpicas en una zona del Estero, sin embargo no encontró relación. También obtuvieron que la sobrevivencia de las tetrasporas en verano fue de 7% a los 30 días en laboratorio.

No obstante, es importante señalar que la presencia de plantas fértiles en el campo no asegura la liberación (Kain y Destombe, 1995) por lo tanto aunque hay talos fértiles de G. pacifica en el Estero de Punta Banda todo el año, se desconoce si estos tienen la capacidad de liberar esporas a lo largo de este, así como si existe una variación diaria y diurna. Y una vez liberadas ¿como variará su viabilidad estacionalmente? ya que sólo se cuenta con un registro de baja sobrevivencia en verano de tetrasporas (Pacheco-Ruíz et al., 1993). Y más aún, si son viables ¿variará la capacidad de fijación durante el año?

La liberación de esporas, se ha estudiado temporalmente a tres escalas: diurna, diaria y estacional. En la diurna, el comportamiento a sido variable; Friedlander y Dawes (1984) en Gracilaria foliifera (Forsskal) Borgensen var angustissima (Harvey) Taylor, reportan la mayor liberación a medianoche; mientras que para 48 especies tropicales la liberación se dió principalmente al amanecer y atardecer, reguladas presumiblemente por un reloj biológico asociado a las mareas y ciclos lunares (Ngan y Price, 1983). A escala diaria, se han visto las mayores liberaciones entre el primero y tercer día (Ummamaheswara-Rao y Kaliaperumal, 1983; Pacheco-Ruiz et al., 1989). A escala estacional, aunque no se conoce el patrón de liberación, los datos de fertilidad permiten predecir que en zonas templadas la mayor liberación tiende a ser estacional y en algas templado-cálidas podrían mostrar dos máximos (primavera y otoño) (Hoffmann, 1987). Por otra parte, la baja luminosidad, al parecer, favorece la liberación y/o altas la reducen (Santelices, 1990). La temperatura, ha provocado que varíe tanto la intensidad como el período de máxima liberación diurna a diferencia de la irradiancia, fotoperiodo, salinidad y desecación que sólo han originado una variación en la intensidad de la liberación (Ummamaheswara-Rao y Subbarangaiah, 1981; Narasimha y Subbarangaiah, 1991). Por lo tanto, si la mayor fecundidad de G. pacifica en el Estero en el año es en verano y la menor en invierno, se esperaría que la mayor capacidad de liberación fuera en verano-otoño con un efecto directo con la temperatura e inverso con la irradiancia con un máximo en los primeros días de liberación.

La viabilidad, es una condición fisiológica de un organismo para poder sobrevivir en un ambiente adecuado. Es evaluada comúnmente por medio del porcentaje de sobrevivencia o de germinación en esporas de algas (Kain y Destombe, 1995). Algunos factores físicos como la luz, han tendido a no afectar la germinación de esporas algales (Dring, 1988); pero ha sido sugerido que puede

ser influenciada por la estación del año y favorecida cuando se da el pico de esporulación (Rangaiah, 1984 en Kain y Destombe, 1995). Por otro lado, pocos trabajos se han enfocado a explicar la variación de la sobrevivencia. Existen dos teorías desarrolladas para otros grupos, que se han aplicado a las algas: el esfuerzo reproductivo y el efecto de la diploidia vs haploidia. En la primera, se describe como una relación inversa del crecimiento vs formación de estructuras reproductivas en especies perennes, en donde si más esporas son producidas para una cantidad de recurso dado, habrá menos descendientes o se dará una disminución en la sobrevivencia o el crecimiento de estos, debido a una disminución del recurso por espora (DeWreede y Klinger, 1988). En la segunda idea, se han propuesto algunas hipótesis para explicar una sobrevivencia mayor de la diploidia vs haploidia, como es el posible efecto buffer genético de los organismos diploides contra mutaciones letales; no obstante, también se ha registrado una mayor sobrevivencia de haploides (Valero et al., 1992). Con base en ambas ideas se espera que la viabilidad de las esporas sea mayor en carposporas colectadas en invierno cuando la tasa de crecimiento del alga en el campo es la más baja del año y puede dirigirse más recurso para sus esporas.

Otro de los aspectos fundamentales en el desarrollo de la espora, es la fijación, fase que ha sido sugerida como determinante para el mantenimiento de las macroalgas como organismos bentónicos (Santelices, 1990). Sin embargo, los trabajos de fijación de esporas, están básicamente enfocados a la fisiología celular (Apple y Harlin, 1995), al efecto del tipo de sustrato (Fletcher y Callow, 1992); y en menor medida, al efecto de los factores físicos tales como la temperatura e irradiancia, que comúnmente afectan la fijación de otros grupos análogos como las larvas (Young, 1990). Sin embargo, Apple y Harlin (1995) han determinado que la fijación es el resultado de un proceso metabólico. Por lo tanto, si el incremento de la temperatura e irradiancia aumenta el metabolismo vegetal, se

espera que de la misma manera ambos factores tengan un efecto directo en la fijación. Y estacionalmente, dado que existe una variación en la cinética del metabolismo de los organismos, de la misma manera sea posible una variación en la fijación; la cual puede reflejarse en las estaciones extremas del año como son verano-otoño vs invierno.

Finalmente, se ha demostrado un diferente comportamiento ecológico entre las fases ploidies de las algas con alternancia de generaciones. Por ejemplo, los ciclos heteromórficos, se han propuesto como estrategias para escapar de la herbivoría (Lubchenco y Cubit, 1980). Los factores físicos como la luz (irradiancia, fotoperiodo), temperatura y salinidad han regulado la presencia de las fases ploidies y los períodos de reproducción de manera diferente (Santelices, 1990). Las tetrasporas de Gracilaria verrucosa (Hudson) Papenfuss tuvieron una mayor dispersión que las carposporas a diferentes condiciones de luz (Destombe et al., 1992). También se detectó una mayor sobrevivencia de esporas haploides que de diploides en condiciones de escasez de nutrientes (Destombe et al., 1993). Y una tendencia a presentar menor diámetro de las esporas haploides que en diploides (Ngan y Price, 1979). Por lo tanto, es factible que la respuesta entre esporas haploides y diploides para la liberación, viabilidad y fijación sea diferente.

Con base en lo anterior, se planteó como objetivos:

- Determinar el efecto de la temperatura e irradiancia en estaciones frías y cálidas del año sobre la capacidad de liberación y porcentaje de fijación de tetrasporas y carposporas de Gracilaria pacifica del Estero de Punta Banda, B.C. bajo condiciones de laboratorio.

- Estimar la liberación diurna de tetrasporas y carposporas.

- Determinar el efecto de la temperatura, irradiancia y estación del año sobre el porcentaje de sobrevivencia de tetrasporas y carposporas de G. pacifica.

METODOLOGÍA

Las plantas se colectaron en marea baja, en un sistema intermareal lodoso, a la entrada de la laguna costera denominada Estero de Punta Banda, B.C. ($31^{\circ}47'$ N y $116^{\circ}37'$ W) -Fig. 1-. Se transportaron húmedas en una hielera por un trayecto de 45 min. y se dejaron en tanques exteriores de 80 l, (Zertuche-González, 1990), utilizando burbujeo constante y flujo abierto por dos días para experimentos de liberación y entre dos a cinco días para los de sobrevivencia. Después se llevaron al laboratorio y se sometieron a los siguientes tratamientos.

Liberación y fijación:

Se evaluó la liberación de esporas bajo un gradiente de luz y temperatura. La evaluación se hizo para talos ($n \geq 10$) colectados en épocas frías y cálidas del año (febrero-marzo y octubre-noviembre de 1995). De las plantas carposporofitas, se seleccionaron trozos de las ramas que presentaron la mayor densidad de cistocárpos, tomando fragmentos de 3 a 10 cm de longitud. De la misma forma, se escogieron trozos de las ramas tetraspóricas las cuales comúnmente fueron las más gruesas de la base del talo y de color ámbar. Se limpiaron de sedimento y epífitas con un cepillo de dientes, y se enjuagaron con agua de mar filtrada a $1\mu\text{m}$ y pasada por UV (ya que en pruebas preliminares, el lodo que a veces cubría las ramas, impidió la liberación de las tetrasporas). Se colocaron 2 g de planta en peso húmedo por caja de petri de 100x80 mm con agua de mar filtrada y pasada por UV. Se ubicaron en una mesa de gradientes en un diseño factorial con una caja de petri por tratamiento. El experimento se repitió la semana siguiente. En el primer experimento

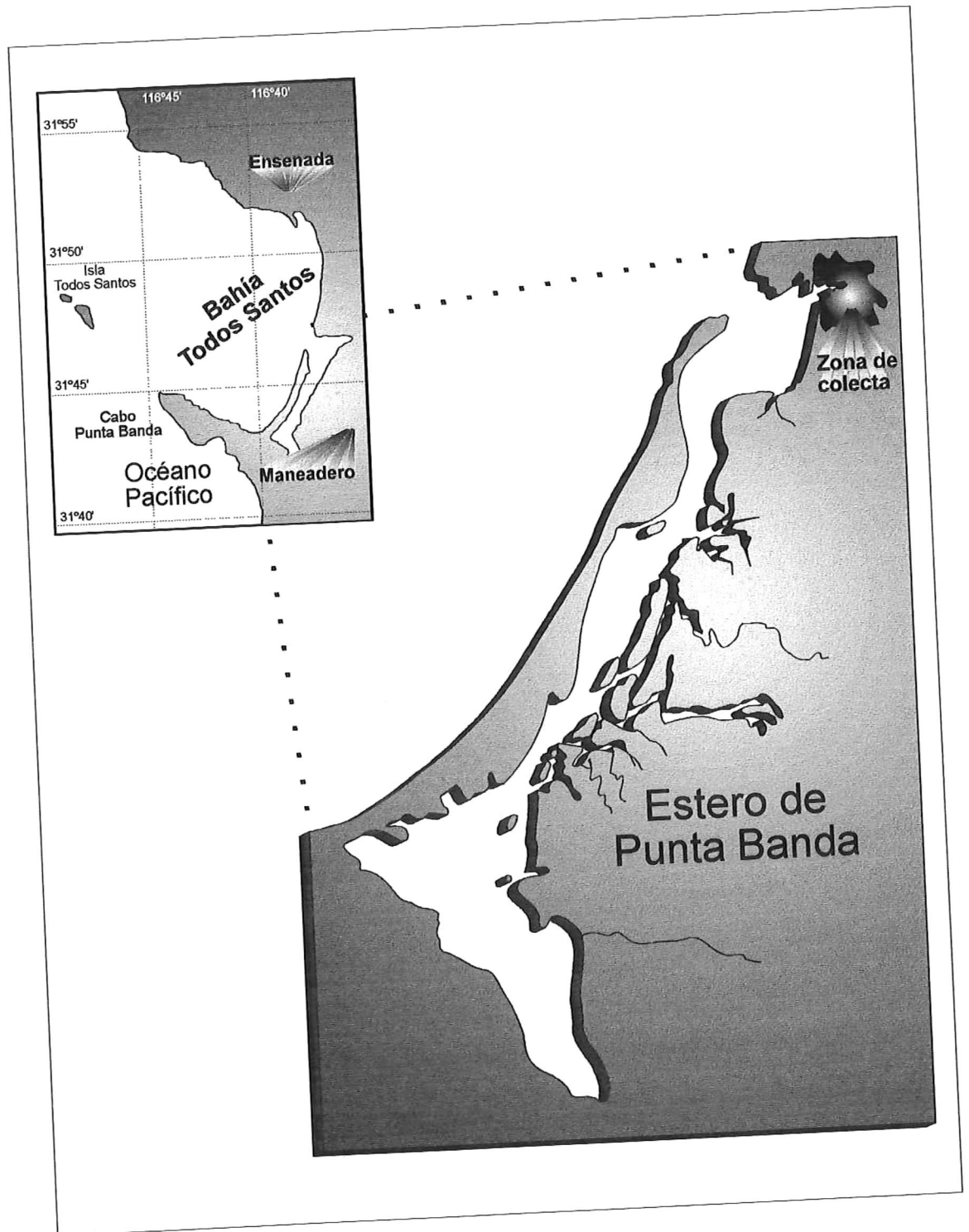


Fig. 1: Zona de colecta de Gracilaria pacifica.

(febrero-marzo de 1995), se realizó un diseño factorial de 3x3 (15.5, 21, 24.5°C y 0, 60, 140 $\mu\text{Em}^{-1}\text{s}^{-1}$ -medidas con un irradiómetro 4 π biospherical), y en el segundo (octubre-noviembre de 1995) se agregó un nivel de irradiancia, por lo que el diseño quedó de 3x4 (15.5, 21, 24.5°C y 0, 16, 60, 140 $\mu\text{Em}^{-1}\text{s}^{-1}$). Todos los experimentos se llevaron acabo en un fotoperíodo 12:12 y el monitoreo se inició al día siguiente de poner a liberar las plantas y continuó diariamente por seis días. La evaluación se hizo con los datos de fijación que enseguida se describen.

El porciento de fijación se obtuvo, de la evaluación de esporas liberadas. Esto es, una vez retiradas las ramas, se agitó el recipiente manualmente para poner las esporas en suspensión y vaciarlas a un vaso de precipitado. Las esporas que quedaron adheridas en el fondo, se despegaron con una espátula y se les agregó agua de mar filtrada para crear un medio y calcular su cantidad. Después de evaluar el número de esporas de ambos recipientes, se obtuvo el porcentaje de fijación por medio de la relación entre esporas adheridas al fondo y las no adheridas. El análisis de la fijación sólo se tomó en cuenta del primero al cuarto día, dado que del quinto en adelante algunos tratamientos ya no tuvieron liberación. Se sumaron las cantidades de los dos recipientes para obtener la liberación total por tratamiento.

La estimación de esporas por recipiente, se llevó a cabo homogeneizando el medio usando un magneto en una plancha de agitación y manteniendo el recipiente inclinado aproximadamente 30°. Después se tomaron con una pipeta automática gotas de 20 ó 30 μl (según la densidad de esporas) de la solución y se colocaron en una caja de petri, por 45 veces (tomando 15 muestras del fondo, 15 de la superficie y 15 en el núcleo del cono de succión). Se contaron las esporas por gota con la ayuda de un estereoscopio, después se extrapoló al volumen del líquido restante y se estimó el porcentaje de esporas fijas y no fijas.

Liberación diurna:

Se evaluó la liberación cada 4 hr durante 28 hr, en los meses de abril para carposporas y de abril y junio de 1995 para tetrasporas. El diseño se llevó acabo con tres niveles de irradiancia y dos unidades experimentales por tratamiento (cada unidad experimental separada por 4 días en tetrasporas; y 2 y 57 días para carposporas).

Las plantas se trajeron del campo y se dejaron en tanques de 80 l por un día. Después se seleccionaron los pedazos de las ramas fértiles (entre 3-10 cm) y se limpiaron con un cepillo de dientes. De aquí, se colocaron 3.5 g de tejido húmedo en cajas de petri de 100x80 mm en agua de mar filtrada a 1 μm y se dejaron aclimatar por un día a los tratamientos que se iban a someter, que fueron a 22°C y tres irradiancias (16, 63, 144 $\mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$).

La evaluación de la cantidad de esporas por caja de petri, se hizo como en el experimento anterior pero, con cambios de caja y agua de mar cada cuatro horas, la cual se ponía previamente a la misma temperatura del tratamiento.

Sobrevivencia:***1).- Estacional:***

Se utilizó un mínimo de 10 talos de plantas cistocárpicas y 20 tetraspóricos en las cuatro estaciones del año de 1994 (11 de febrero, 6 de mayo, 3 de septiembre y 7 de diciembre para cistocárpicas y; 13 de enero, 6 de mayo, 10 de septiembre y 19 de noviembre para tetraspóricas).

Se seleccionaron como en el experimento anterior trozos de las ramas con carposporas y tetrasporas. Los fragmentos se limpiaron con un cepillo de dientes hasta dejar la superficie sin sedimentos ni epífitas. Después se pasaron por ultrasonido de dentista tres veces por 2 min con recambios de medio Provasoli (1966 en Bold y Wynne, 1978) esterilizado en autoclave a 120°C por 15 min, hasta acumular entre 8 a 12 g de tejido húmedo. Los trozos, se dejaron liberando en medio Provasoli sin vitaminas, el cual se preparó con agua de mar

filtrada a $0.45\ \mu\text{m}$ y se esterilizó en autoclave. Se agregó a cada litro de medio 20 mg de estreptomicina, 15 mg de penicilina-G de 5,000,000 u (para prevenir una contaminación bacteriana) y 35 mg de GeO_2 (para eliminar diatomeas). Los fragmentos se mantuvieron entre dos y cuatro días a 20°C y $60\ \mu\text{Em}^{-1}\text{s}^{-1}$ con fotoperiodo 12:12 en una caja de petri de 100x80 mm (dependiendo de la densidad de esporas liberadas).

Posteriormente, se desecharon las ramas y se homogeneizaron las esporas liberadas en el agua, utilizando un magneto con agitación moderada (Hoffman y Camus, 1989). Esto con el fin de separar las esporas para facilitar su distribución en las cajas de petri y disminuir el posible efecto de coalescencia, lo cual podría afectar la sobrevivencia (Muñoz y Santelices, 1994). Del medio en agitación, se tomaron alícuotas de entre 20-30 μl con una pipeta automática, para colocarlas en forma de gotas en las cajas de petri de 60x15 mm, y después contar las esporas con un estereoscopio y registrar el valor que fluctuó entre 100 y 130 esporas por caja de petri.

Las cajas de petri se ubicaron en una mesa de gradientes con un diseño factorial de 3x3 con dos réplicas (temperaturas de 18, 20 y 22°C e irradiancias de 30, 60 y $100\ \mu\text{Em}^{-1}\text{s}^{-1}$). En la primer semana, se cambió el medio el cual se mantuvo libre de GeO_2 y antibióticos. Posteriormente los cambios se realizaron cada 4 días. En caso de notar contaminación por diatomeas, se les agregó $35\ \text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ de GeO_2 por 4 a 8 días. Durante los cambios, se limpiaron de epífitas. Después de entre 54 a 60 días, se contaron las plántulas por caja de petri y se obtuvo el porcentaje de sobrevivencia.

II).- Invierno:

Debido a la tendencia a disminuir la sobrevivencia a 18°C en algunas estaciones del año del anterior experimento, se amplió el intervalo de temperatura a 15°C , con el fin de conocer la temperatura

a la cual disminuía la sobrevivencia claramente. Además, se monitoreo la sobrevivencia semanal por ocho semanas.

Las colectas de plantas tetraspóricas se hicieron el 28 de noviembre de 1995, y para carpospóricas el 12 de enero de 1996. Se colocaron en tanques por dos días, después se limpiaron y dejaron liberando por 2 días a 23°C y $140\mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$, fotoperiodo 12:12, con las indicaciones del experimento anterior. De la misma manera se hizo el sembrado y se sometieron las esporas a un diseño factorial de 4×4 con dos réplicas ($15.5, 18, 22.5$ y 25°C ; $30, 60, 100$ y $140\mu\text{Em}^{-1}\text{s}^{-1}$). A los 15 días se hizo el primer cambio de medio y se cuantificó la sobrevivencia, después cada semana, por 60 días, limpiando las cajas de petri cuando aparecieron epífitas y utilizando el GeO_2 en caso de observar florecimientos de diatomeas.

Tamaño:

Se midió el diámetro de 30 tetrasporas y 30 carposporas por mes de varias de las liberaciones que se hicieron durante el trabajo (2 de abril, 13 de septiembre, 27 de noviembre de 1994 para tetrasporas y; 2 de abril, 7 de septiembre, 27 de noviembre, 19 de diciembre de 1994 y 16 de marzo de 1995 para carposporas). La medición se llevó acabo con un micrómetro con reglilla el cual se ajustó a un objetivo de un microscopio bi-ocular. Se consideró como criterio sólo a las esporas que presentaron un solo núcleo evidente.

Análisis estadístico:

Los resultados fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA) cuando estos fueron con más de dos réplicas y presentaron homogeneidad de varianzas para la prueba de Levene (ya que es poco sensible a la no normalidad Manly, 1990). En caso contrario, se sometieron a la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis (KW) de una, dos, tres y cuatro vías (Scheirer, Ray y Hare, 1976 en Zar, 1984) y se obtuvo el valor de probabilidad de la χ^2 , por medio de una

transformación a la distribución "Z" (Winer *et al.*, 1991). Se utilizó un nivel de confianza del 95%.

RESULTADOS

Liberación:

La liberación de tetrasporas tuvo una relación directa con la irradiancia y fue mayor en el mes de octubre. Un análisis de 3 vías (temperatura, irradiancia y mes) para tetrasporas, resultó significativo para el efecto de la irradiancia y el mes (Tabla I). Esto se confirmó al eliminar el factor temperatura y someter los datos a un ANOVA de dos vías (Tabla II) después de haber probado homogeneidad de varianzas ($P=0.7506$) (Fig. 2).

Table I: Análisis de KW de tres vías de la liberación de tetrasporas.

Temperatura	P>0.5
Irradiancia	P=0.0007 **
Mes	P=0.0003 **
Temperatura <i>vs</i> Irradiancia	P>0.5
Temperatura <i>vs</i> Mes	P>0.5
Irradiancia <i>vs</i> Mes	P>0.5
Temperatura <i>vs</i> Irradiancia <i>vs</i> Mes	P>0.5

Table II: ANOVA de dos vías de la liberación de tetrasporas sin incluir Temperatura.

Irradiancia	P= 0.0000 **
Mes	P= 0.0000 **
Irradiancia <i>vs</i> mes	P= 0.4749

La mayor liberación de carposporas se dió a los 20°C y entre 60-140 $\mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ con un mayor efecto de la temperatura en marzo. En un KW de tres vías, resultó significativo el efecto de la temperatura y la interacción temperatura-mes (Tabla III). Sin embargo, al someter los datos a un ANOVA de dos vías sin tomar en cuenta la irradiancia, resultó significativo el efecto de la temperatura, mes y la interacción mes *vs* temperatura (Tabla IV), con una homogeneidad de varianzas

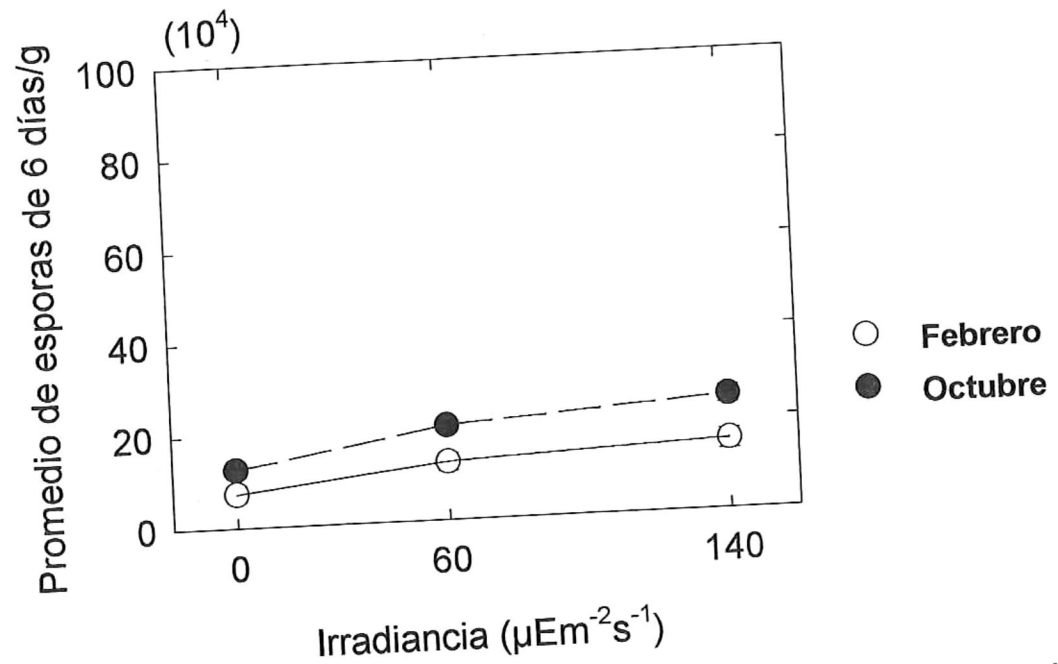


Fig. 2: Número de tetrasporas liberadas en seis días, por gramo de tejido húmedo. La mayor liberación se dió en octubre, con un efecto directo de la irradiancia. Cada punto representa la media y las barras el error estandard.

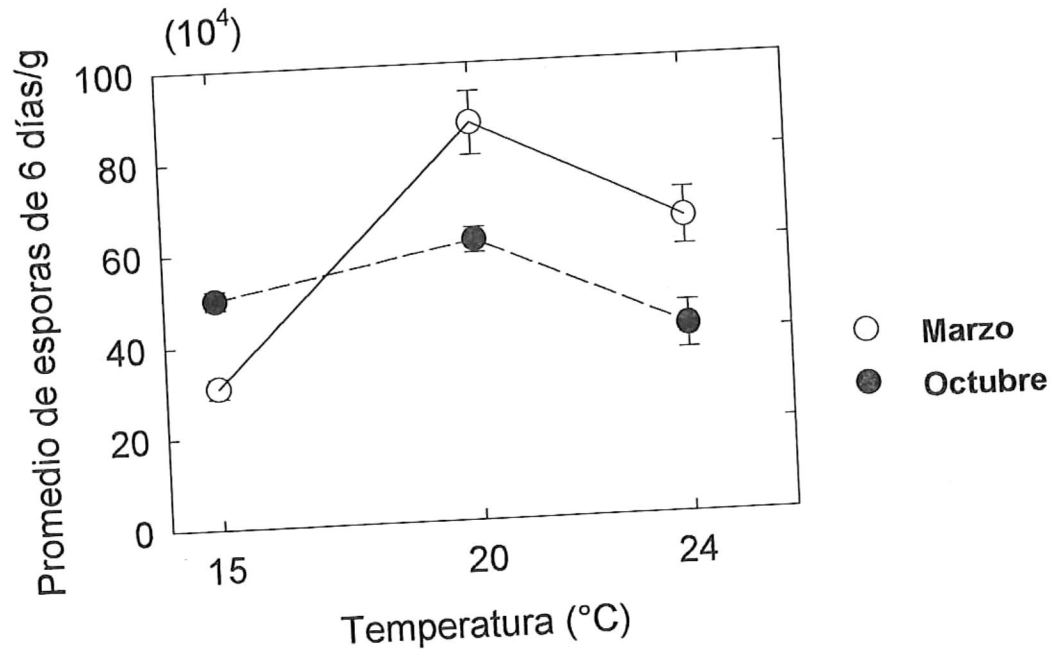


Fig. 3: Número de carposporas liberadas en seis días, por gramo de tejido húmedo. Existió un efecto de interacción Temperatura-Mes, donde la temperatura afecta a la liberación en febrero. Cada punto representa la media y las barras el error estandard.

de $P=0.0715$. No obstante, al someter los datos sin tomar en cuenta el mes, a un ANOVA después de tener una homogeneidad de varianzas de $P=0.9396$ dió significativa para la temperatura e irradiancia (Tabla V -Fig. 3).

Table III: Análisis de KW de tres vías de la liberación de carposporas.

Temperatura	$P=0.0003$	**
Irradiancia	$P=0.06$	
Mes	$P=0.35$	
Temperatura vs Irradiancia	$P>0.5$	
Temperatura vs Mes	$P=0.0047$	**
Irradiancia vs Mes	$P>0.5$	
Temperatura vs Irradiancia vs Mes	$P>0.5$	

Table IV: ANOVA de dos vías de la liberación de carposporas sin incluir irradiancia.

Temperatura	$P=0.0000$	**
Mes	$P=0.0370$	**
Mes vs Temperatura	$P=0.0004$	**

Table V: ANOVA de dos vías de la liberación de carposporas sin incluir Mes.

Temperatura	$P=0.0001$	**
Irradiancia	$P=0.0149$	**
Temperatura vs irradiancia	$P=0.5899$	

El inicio de la liberación diaria de tetrasporas y carposporas (usando los resultados por día del experimento anterior) entre febrero vs octubre fue diferente. En febrero se inició con una baja densidad de liberación y su máximo fue entre el tercero y quinto día. En octubre, la densidad de liberación se mantuvo alta desde el primero hasta el tercer día y posteriormente declinó (Fig. 4 y 5).

Liberación diurna:

En el análisis KW de 2 vías para tetrasporas (irradiancia y horario de la liberación), resultó que la liberación fue significativamente mayor a las irradiancias de 60 y $140 \mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$,

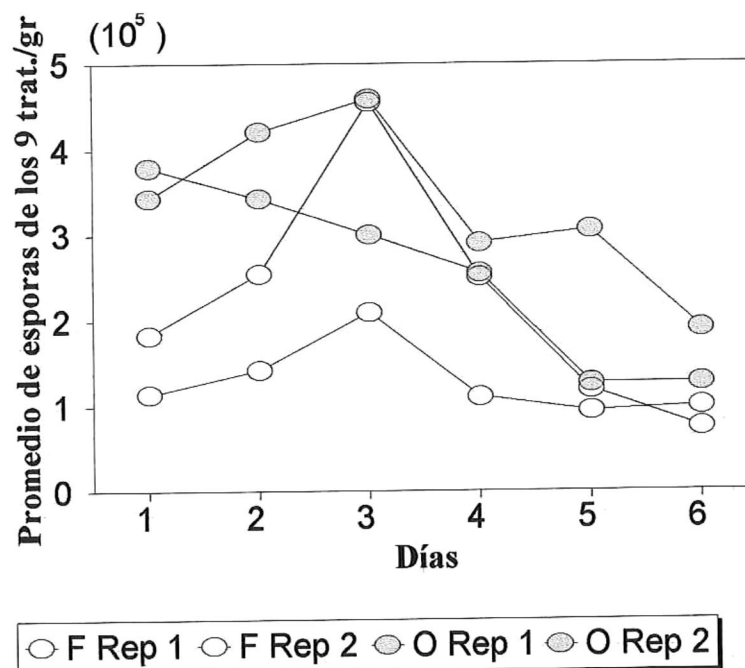


Fig. 4: Liberación diaria de tetrasporas. Cada punto representa la media de las esporas liberadas por gramo de tejido húmedo de los nueve tratamientos por día. F Rep1: Febrero repetición 1. F Rep2: Febrero repetición 2. O Rep1: Octubre repetición 1. O Rep2: Octubre repetición 2.

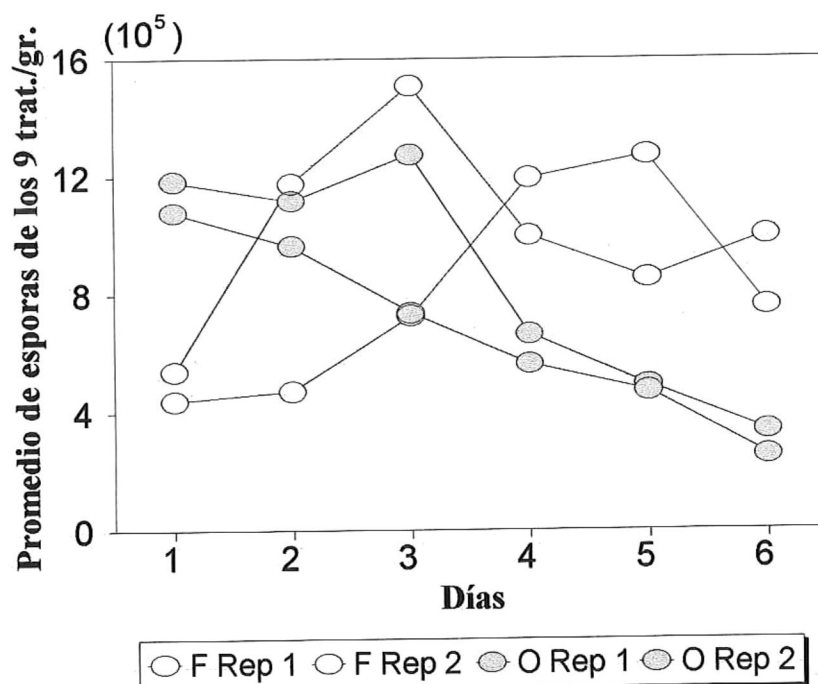


Fig. 5: Liberación diaria de carposporas. Cada punto representa la media de las esporas liberadas por gramo de tejido húmedo de los nueve tratamientos por día. F Rep1: Febrero repetición 1. F Rep2: Febrero repetición 2. O Rep1: Octubre repetición 1. O Rep2: Octubre repetición 2.

(Fig. 6) con un máximo al inicio del anochecer (8:00 p.m.) y sin un comportamiento diurno a $16\mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ (Fig. 7) -Tabla VI-.

Table VI: Análisis de dos vías de KW de la liberación diurna de tetrasporas.

Irradiancia	P=0.0035	**
Período de liberación	P=0.147	
Irradiancia vs Período de liberación	P>0.5	

En carposporas, la liberación diurna se realizó en el mes de abril con diferencia de dos días entre las réplicas. Sin embargo, presentaron un comportamiento claramente antagónico en donde el pico de liberación promedio del primer día fue a las 12 am y el del segundo a las 12 pm. Esto originó que se evaluará nuevamente un día más de liberación en junio. Los datos de este último día, coincidieron con el comportamiento de la primer réplica (Fig. 8). Por lo que el análisis de los datos, se llevó a cabo sólo con los datos del primer y tercer día. Usando un KW de 2 vías (irradiación y los periodos de 4 hrs de liberación), resultó significativa la mayor liberación a las horas del atardecer (4:00 p.m.) y no hubo diferencias en el comportamiento entre las 3 irradiancias (fig. 9 -Tabla VII-).

Table VII: Análisis de dos vías de KW de la liberación diurna de carposporas.

Irradiancia	P>0.5	
Período de liberación	P=0.009	**
Irradiancia vs Período de liberación	P=0.4858	

Sobrevivencia:

1).- Estacional:

En tetrasporas de invierno, se dió la mayor sobrevivencia (2-34%) y menor en las de verano (0-9.8%). Paradójicamente, en el caso de invierno la sobrevivencia fue menor a 18°C y la mayor entre 20-22°C (Fig. 10). El análisis de KW de tres vías (temperatura, irradiación y estación del año) resultó significativo sólo el factor estación del año en el porcentaje de sobrevivencia (Tabla VIII). Sin

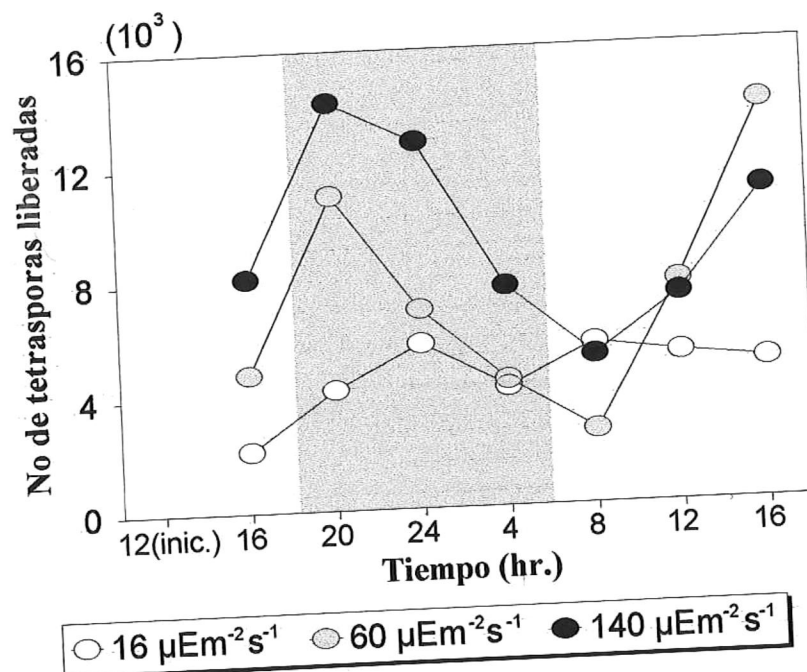


Fig. 6: Liberación diurna de tetrasporas por gramo de tejido húmedo a 3 irradiancias. La mayor liberación se da a la mayor irradiancia. La parte oscura de la gráfica, representa las horas de la noche. Cada punto muestra la mediana de las dos réplicas.

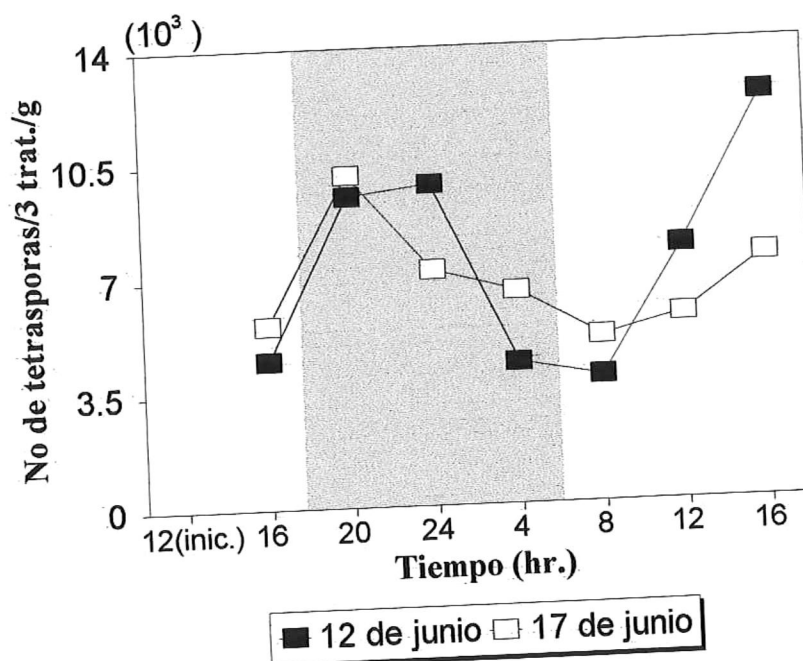


Fig. 7: Liberación diurna de tetrasporas por repetición. La menor liberación se dió al amanecer. La parte oscura de la gráfica, representa las horas de la noche. Cada punto de la gráfica señala el promedio de la liberación de las 3 irradiancias.

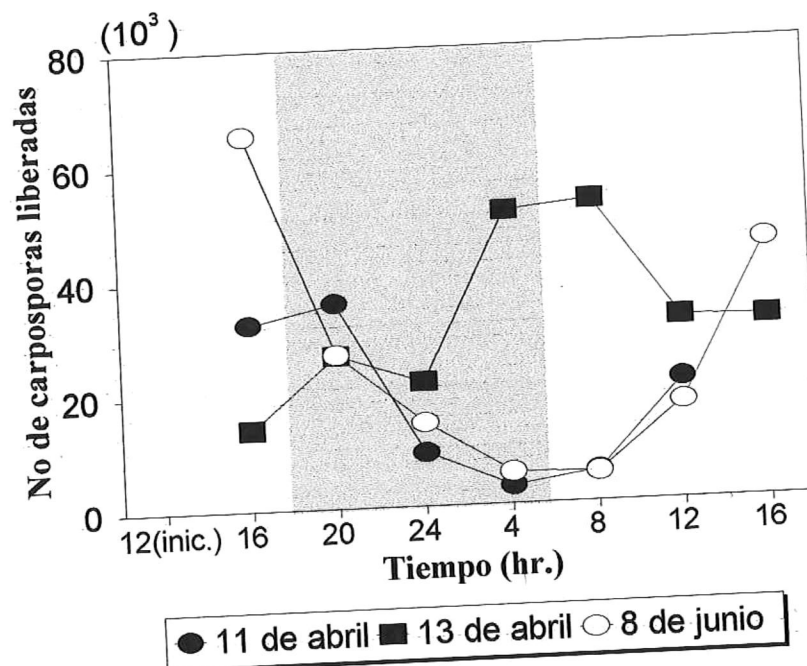


Fig. 8: Liberación diurna de carposporas por repetición. La liberación del 13 de abril presentó su mayor a media noche, a diferencia de las otras dos repeticiones. La parte oscura de la gráfica, representa las horas de la noche. Cada punto muestra el promedio de la liberación de las tres irradiancias.

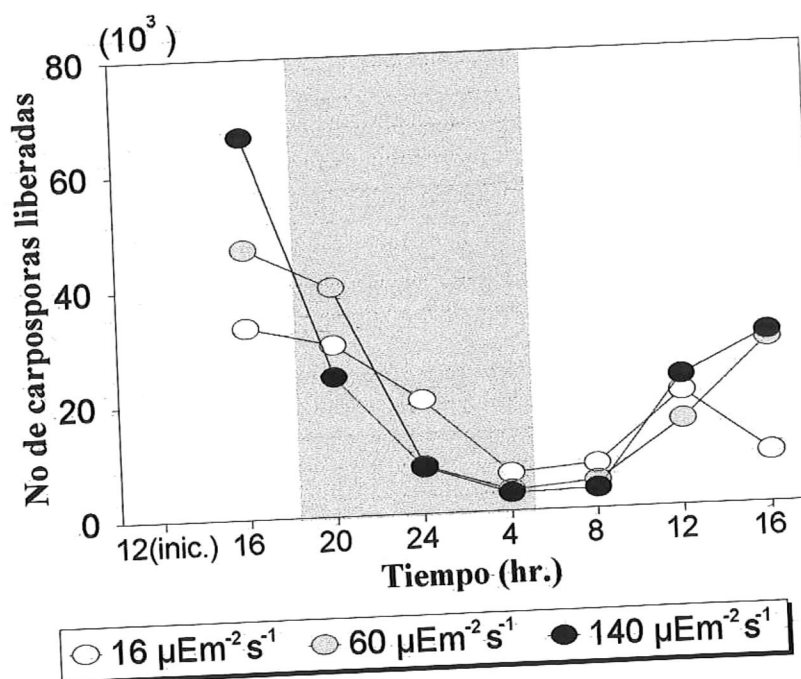


Fig. 9: Liberación diurna de carposporas a 3 irradiancias para la repetición del 11 de abril y 8 de junio. La mayor liberación se dió a mediodía. La parte oscura de la gráfica, representa las horas de la noche. Los puntos muestran la mediana de las dos repeticiones.

embargo, al analizar los datos eliminando la irradiancia y transformandolos con raíz cuadrada ($x^{\frac{1}{2}}$) se tuvo homogeneidad de varianzas ($p=0.1726$). Y en un ANOVA de 2 vías se obtuvo un efecto significativo de la estación del año y la interacción temperatura-estación del año (Tabla IX). La cual se hace evidente en invierno donde a 18°C es significativamente menor la sobrevivencia que a 20 y 22°C .

Table VIII: Análisis KW de tres vías de la sobrevivencia estacional de tetrasporas.

Temperatura	P>0.5	
Irradiancia	P>0.5	
Estación	P<0.0000	**
Temperatura vs Irradiancia	P>0.5	
Temperatura vs Estación	P=0.169	
Irradiancia vs Estación	P>0.5	
Temperatura vs Irradiancia vs Estación	P>0.5	

Table IX: ANOVA de dos vías de la sobrevivencia estacional de tetrasporas sin incluir irradiancia.

Temperatura	P= 0.4148	
Estación del año	P= 0.0000	**
Temperatura vs Estación del año	P= 0.0022	**

En carposporas, estacionalmente se encontró un patrón alternante con mayores sobrevivencias en primavera, otoño ($0-28.8$ y $7.4-28.2\%$) y menores en verano e invierno ($0-18$ y $0-6.9\%$). En un análisis de KW de tres vías resultó significativo el efecto de la estación del año y la temperatura pero no la irradiancia (Tabla X). Con estos datos sin incluir la irradiancia, un análisis de KW de dos vías demostró que en verano y otoño, resultó significativamente mayor la sobrevivencia a 20 y 22°C (Fig. 11-Tabla XI).

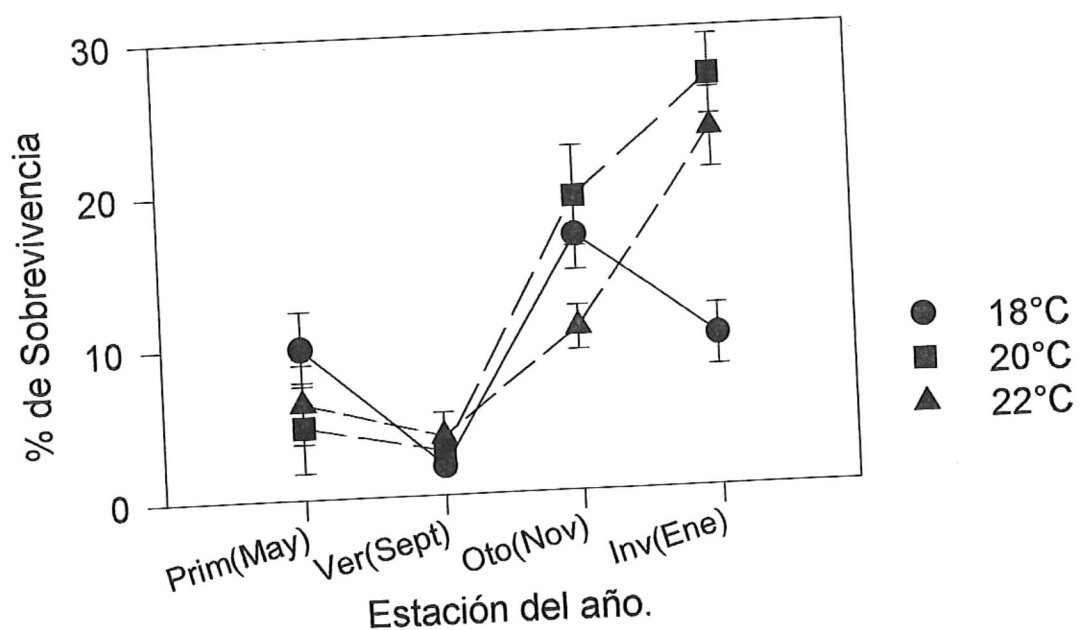


Fig. 10: Variación del porcentaje de la sobrevivencia de tetrasporas estacionalmente, a un gradiente de temperatura. Cada punto representa la media y las barras el error estandard.

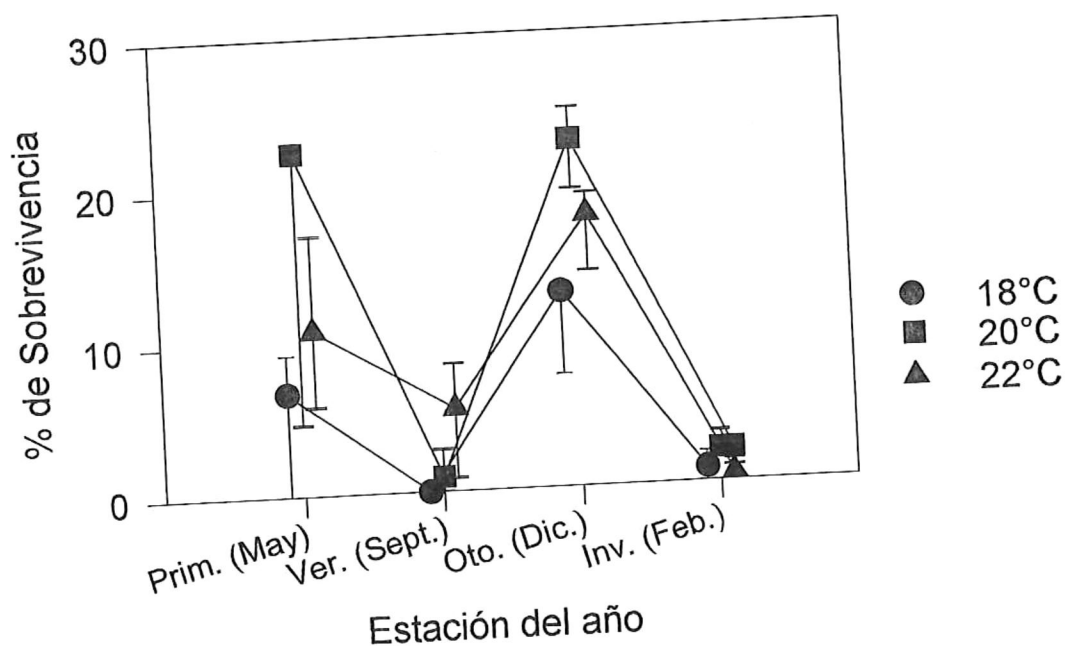


Fig. 11: Variación del porcentaje de sobrevivencia de carposporas estacionalmente, a un gradiente de temperatura. Cada punto representa la mediana y las barras el intervalo del 25 y 75% de los datos.

Table X: Análisis KW de tres vías de la sobrevivencia estacional de carposporas.

Temperatura	P=0.008	**
Irradiancia	P>0.5	
Estación	P<0.0000	**
Temperatura vs Irradiancia	P>0.5	
Temperatura vs Estación	P>0.5	
Irradiancia vs Estación	P>0.5	
Temperatura vs Irradiancia vs Estación	P>0.5	

Table XI: Análisis KW de dos vías de la sobrevivencia estacional de carposporas sin incluir la irradiancia.

Temperatura	P<0.001	**
Estación del año	0.025<P>0.01	**
Temperatura vs Estación del año	0.75 <P>0.5	

II).- Invierno:

Tanto para tetrasporas como en carposporas en un análisis de 2 vías (temperatura e irradiancia) de KW en invierno, sólo la temperatura tuvo una influencia significativa (Tabla XII y XIII). Con una mayor sobrevivencia de 18-25°C, y por debajo de esta es cercana a cero (fig. 12 y 13).

Table XII: Análisis KW de dos vías de la sobrevivencia de tetrasporas en noviembre.

Temperatura	P=0.0019	**
Irradiancia	P>0.5	
Temperatura vs irradiancia	P>0.5	

Table XIII: Análisis KW de dos vías de la sobrevivencia de carposporas en enero.

Temperatura	P<0.0000	**
Irradiancia	P>0.5	
Temperatura vs irradiancia	P>0.5	

Para la variación semanal, resultó que aunque en la sexta semana se detectaron algunas fluctuaciones en el porcentaje de sobrevivencia, la variación de la semana 6 en adelante no fue notable (Fig. 14). En carposporas, existió una mayor variación en el porcentaje de sobrevivencia a través de las semanas, sin embargo

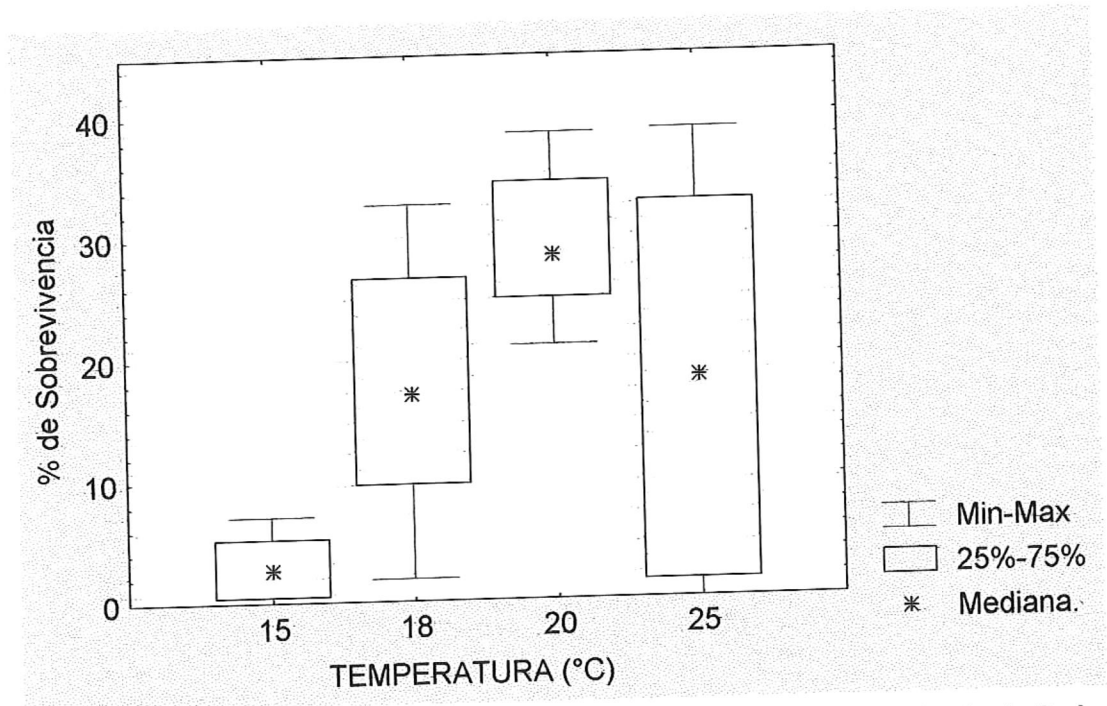


Fig. 12: Porcentaje de supervivencia de tetrasporas a los 60 días (28 de noviembre). Cada punto representa la mediana.

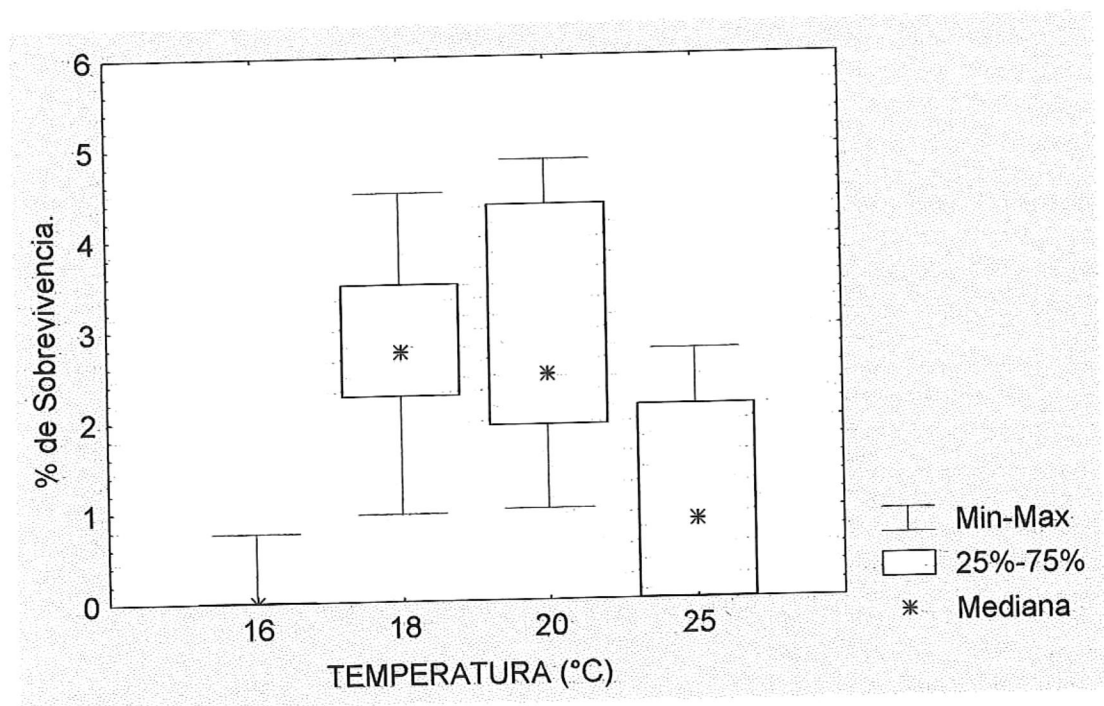


Fig. 13: Porcentaje de supervivencia de carposporas a los 60 días (12 de enero). Cada punto representa la mediana.

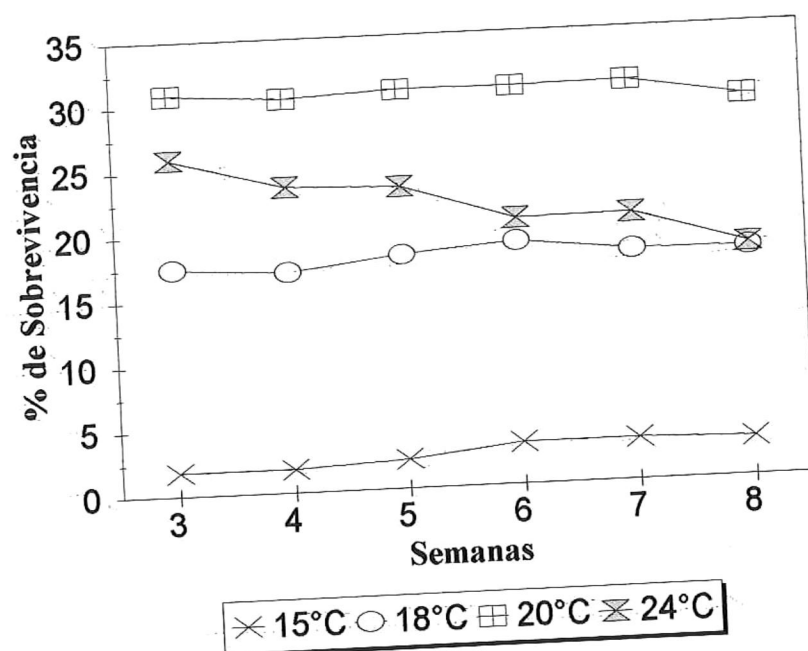


Fig. 14: Variación semanal de la supervivencia de las tetrasporas, a 4 temperaturas. Los puntos representan el promedio del porcentaje de supervivencia a las 4 irradiancias (ya que este factor no mostró un efecto significativo).

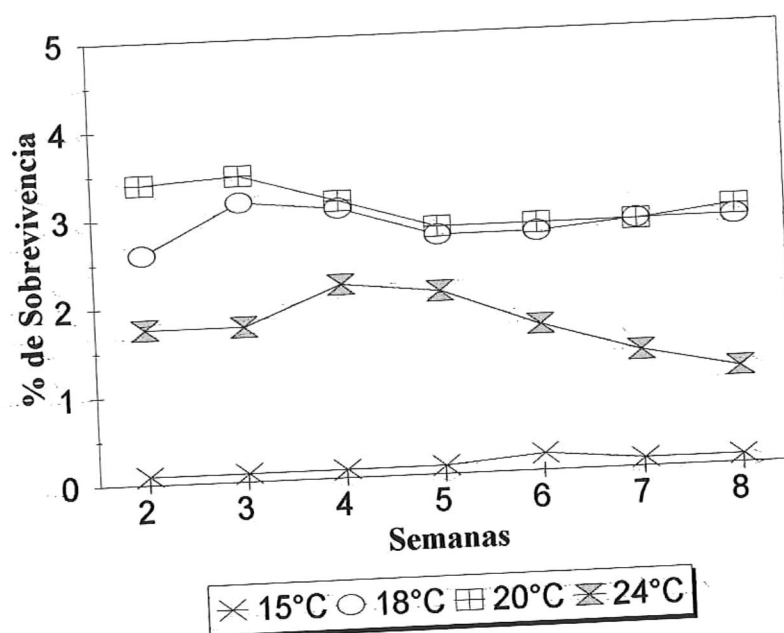


Fig. 15: Variación semanal de la supervivencia de las carposporas a 4 temperaturas. Los puntos representan el promedio del porcentaje de supervivencia a las 4 irradiancias (ya que este factor no mostró un efecto significativo).

después de la semana 6 prácticamente ya no se detectaron nuevas plántulas (Fig. 15).

Fijación:

El porcentaje de fijación en tetrasporas aumento hasta el tercer día y fue directamente proporcional con la temperatura con una ligera mayor fijación en octubre. En el análisis de KW de 4 vías para tetrasporas (temperatura, irradiancia, mes y días de registro de la fijación), resultó significativo el efecto de la temperatura, mes y días en el porcentaje de fijación (Tabla XIV). Lo cual se confirmó al analizar los datos promedio de los cuatro días y no considerar la irradiancia resultando significativa la temperatura y el mes en un ANOVA de dos vías con una homogeneidad de varianzas de $P=0.2556$ (Tabla XV -Fig. 16).

Table XIV: Análisis KW de cuatro vías del porcentaje de fijación de tetrasporas.

Mes	$P<0.005$	**
Temperatura	$P<0.005$	**
Irradiancia	$P>0.5$	
Días	$P<0.005$	**
Mes vs Temperatura	$0.25>P>0.1$	
Mes vs Irradiancia	$0.25>P>0.1$	
Mes vs Días	$0.5>P>0.25$	
Temperatura vs Irradiancia	$P>0.5$	
Temperatura vs Días	$P>0.5$	
Irradiancia vs Días	$P>0.5$	
Mes vs Temperatura vs Irradiancia	$P>0.5$	
Mes vs Temperatura vs Días	$P>0.5$	
Temperatura vs Irradiancia vs Días	$P>0.5$	
Mes vs Irradiancia vs Días	$P>0.5$	
Mes vs Temperatura vs Irradiancia vs Días	$P>0.5$	

Table XV: ANOVA de dos vías usando el promedio de la fijación de tres días de tetrasporas, sin incluir los factores Días e Irradiancia.

Temperatura	$P=0.0000$	**
Mes	$P=0.0001$	**
Mes vs temperatura	$P=0.4767$	

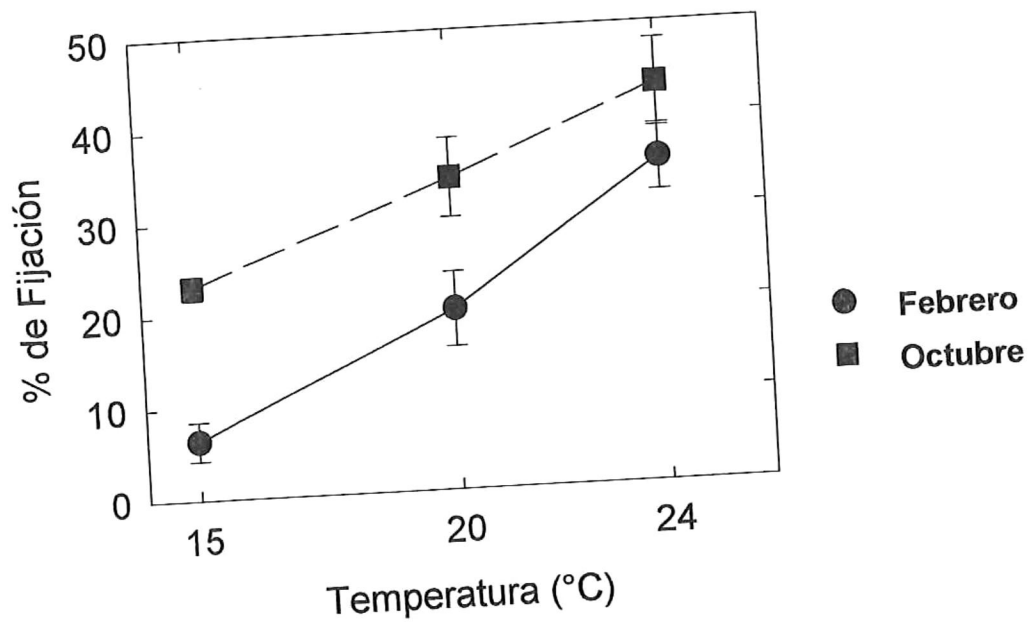


Fig. 16: Porcentaje de fijación de tetrasporas en febrero y octubre, a un gradiente de temperatura. Una significativa mayor fijación se dió en octubre, con un efecto directo de la temperatura. Cada punto representa la media y las barras el error estandar.

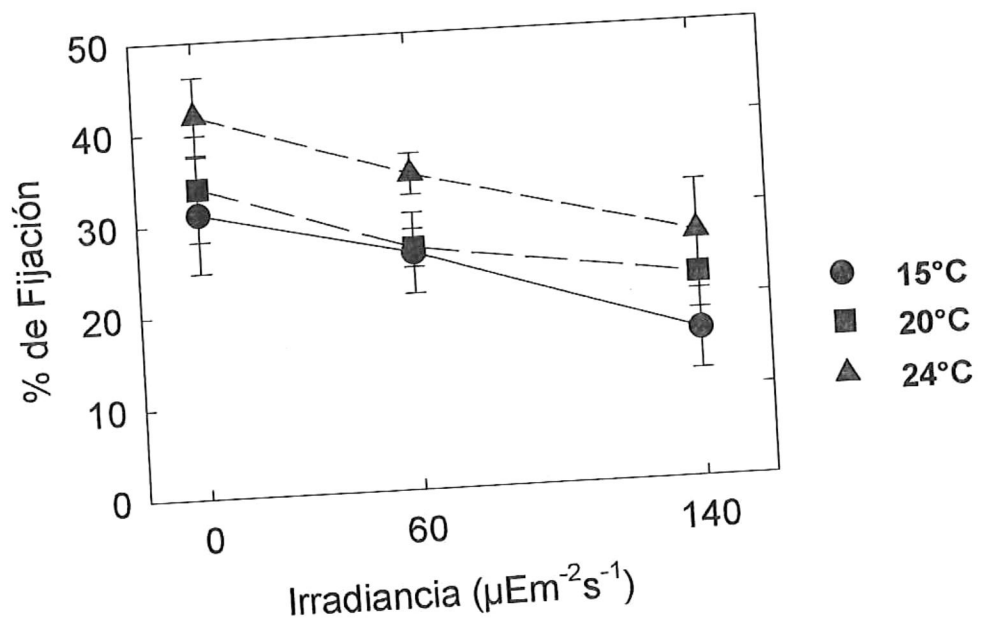


Fig. 17: Porcentaje de fijación de carposporas en febrero y octubre, a un gradiente de irradiancia. La fijación fue inversamente proporcional a la irradiancia. Cada punto representa la media y las barras el error estandar.

El porcentaje de fijación en las carposporas no fue afectado por el mes, pero tuvo un aumento progresivo hasta el cuarto día con un comportamiento inversamente proporcional a la irradiancia y directamente proporcional a la temperatura. En el análisis de KW de cuatro vías (temperatura, irradiancia, mes y días de registro de la fijación), resultó significativo el efecto de la temperatura, irradiancia y día (Tabla XVI). Esto se confirmó al hacer un ANOVA con el promedio de los cuatro días y descartando el factor mes, obteniendo un efecto significativo de la temperatura e irradiancia (Tabla XVII) con una homogeneidad de varianza de $P=0.5349$ (Fig. 17).

Table XVI: Análisis KW de cuatro vías del porcentaje de fijación de carposporas.

Mes	0.25>P>0.1	
Temperatura	0.05>P>0.025	**
Irradiancia	P<0.005	**
Días	P<0.005	**
Mes vs Temperatura	0.25>P>0.1	
Mes vs Irradiancia	0.1>P>0.05	
Mes vs Días	P>0.5	
Temperatura vs Irradiancia	P>0.5	
Temperatura vs Días	P>0.5	
Irradiancia vs Días	P>0.5	
Mes vs Temperatura vs Irradiancia	P>0.5	
Mes vs Temperatura vs Días	0.5>P>0.25	
Temperatura vs Irradiancia vs Días	P>0.5	
Mes vs Irradiancia vs Días	P>0.5	
Mes vs Temperatura vs Irradiancia vs Días	P>0.5	

Table XVII: ANOVA de dos vías usando el promedio de la fijación hasta el tercer día de carposporas, sin incluir los factores Mes y Días.

Temperatura	P=0.0353	**
Irradiancia	P=0.0038	**
Temperatura vs irradiancia	P=0.9786	

La variación de la fijación a través de los 4 días coincidió en ambos tipos de esporas que fue menor en el primer día y aumentó paulatinamente hasta el cuarto día donde se mantuvo (Fig. 18 y 19).

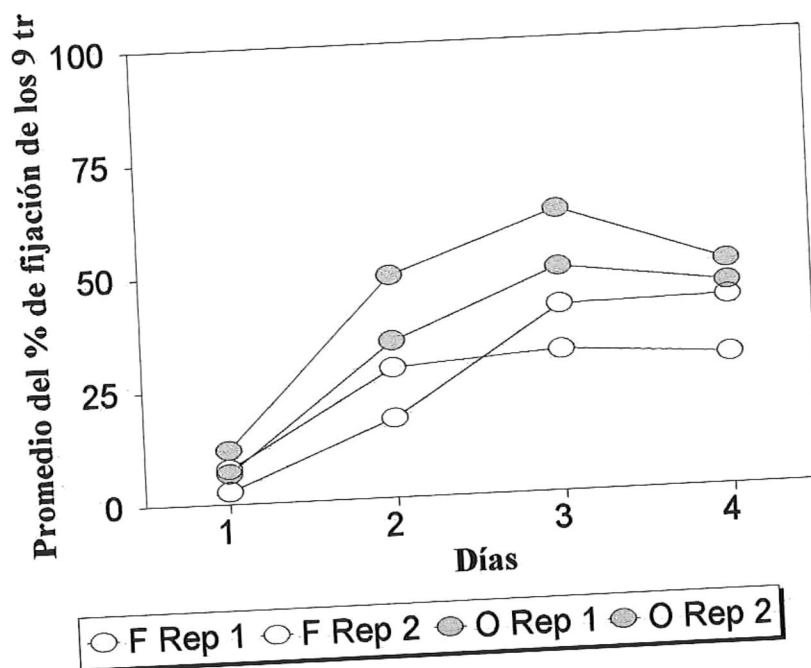


Fig. 18: Porcentaje de fijación diaria de tetrasporas. Cada punto representa el promedio de fijación de todos los tratamientos por día. F Rep1: Febrero repetición 1. O Rep1: Octubre repetición 1. F Rep2: Febrero repetición 2. O Rep2: Octubre repetición 2.

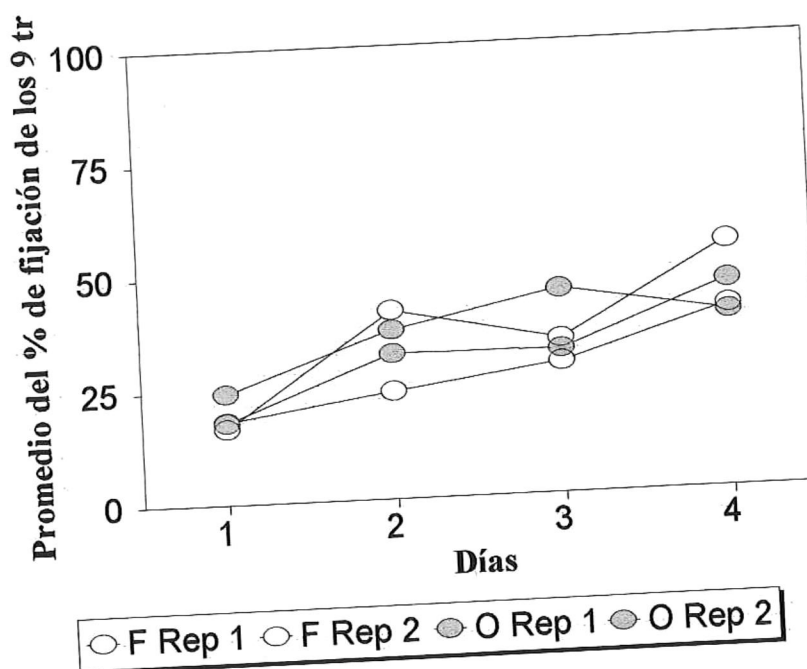


Fig. 19: Porcentaje de fijación diaria de carposporas. Cada punto representa el promedio de fijación de todos los tratamientos por día. F Rep1: Febrero repetición 1. O Rep1: Octubre repetición 1. F Rep2: Febrero repetición 2. O Rep2: Octubre repetición 2.

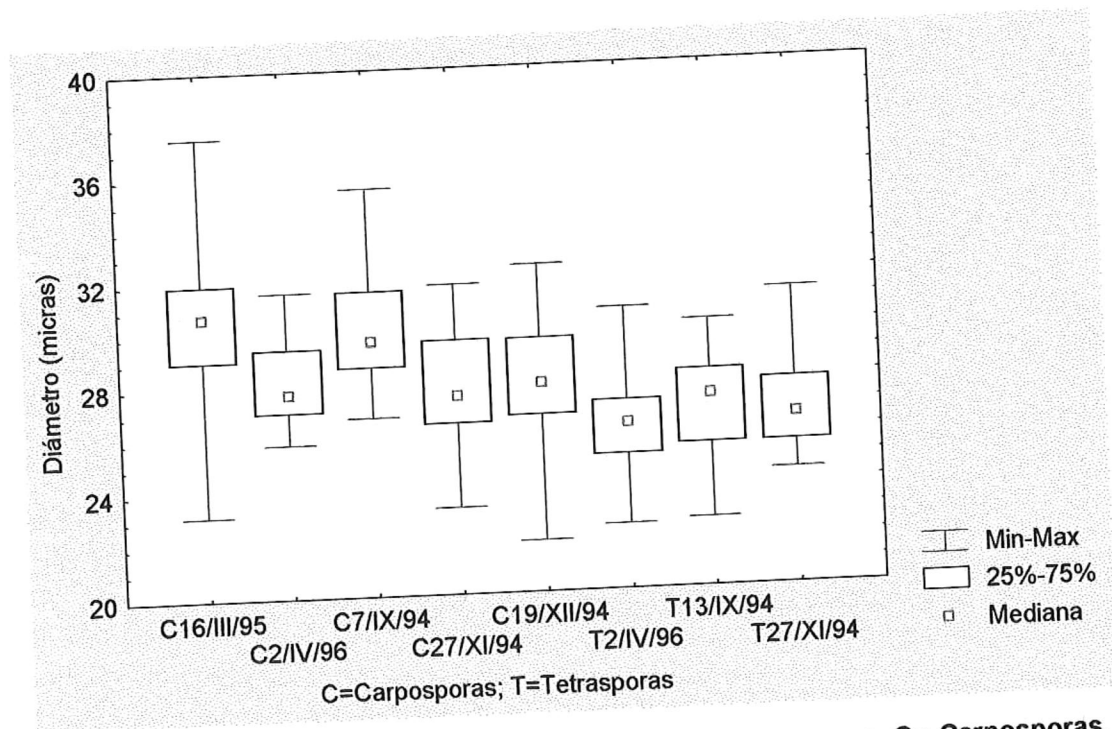


Fig. 20: Diámetro de las tetrasporas y carposporas en diferentes meses. C= Carposporas. T= Tetrasporas. Y la fecha de la liberación de las esporas medidas.

Tamaño:

No hubo diferencia significativa entre los meses en tetrasporas (para un ANOVA de $P=0.0837$ con una homogeneidad de varianza de $P=0.4487$; e incluso para un KW dió $P=0.087$) pero si en carposporas con un tamaño mayor en septiembre y marzo (análisis de KW de $P=0.0000$). Y comparando entre tetrasporas y carposporas en un análisis KW, fue significativamente menor ($P=0.0000$) el diámetro de las tetrasporas ($26.59 \pm 1.76\mu\text{m}$ con un tamaño mínimo de 22.45 y uno máximo de $31.25 \mu\text{m}$) que de las carposporas ($28.90 \pm 2.49\mu\text{m}$ con un tamaño mínimo de 21.95 y uno máximo de $37.56 \mu\text{m}$) (Fig. 20).

DISCUSIÓN

La influencia de los factores ambientales en la liberación, sobrevivencia y fijación en tetrasporas y carposporas fue diferente y con frecuencia antagónica. En tetrasporas, la liberación fue directamente afectada por la irradiancia e incluso dió inicio a un comportamiento diurno; en cambio en carposporas la temperatura fue el factor principal en regular esta variable. La sobrevivencia fue básicamente regulada por la estación del año y aunque coincidió el comportamiento de primavera a otoño en ambos tipos de esporas, en invierno fue diferente, ya que las tetrasporas tuvieron su máxima sobrevivencia mientras que las carposporas la mínima. La fijación en tetrasporas fue directamente afectada por la temperatura sin afectarle la irradiancia, en cambio en carposporas un comportamiento inversamente proporcional con la irradiancia afectó la fijación. Tales diferencias entre tetrasporas y carposporas sugieren un diferente comportamiento ecofisiológico en el medioambiente para permanecer y competir la especie (Klinger, 1993).

Liberación:

En tetrasporas, el mes y la irradiancia fueron los factores que regularon la intensidad de la liberación. Contrariamente en

carposporas, la temperatura reguló la liberación en marzo, y en octubre no se detectó efecto por algún factor.

La máxima liberación de tetrasporas en octubre, coincidió con el pronóstico de Hoffman (1987) para especies templado-cálidas, donde la máxima liberación se espera en la época de mayor porcentaje de talos reproductivos (verano-otoño). Tal mayor fertilidad y liberación, se explica por la alta actividad metabólica y mitótica que es llevada a cabo en esta estación, resultado de la alta irradiancia y mayor tiempo de exposición a la luz, hecho demostrado en otras especies (Lobban y Harrison, 1994).

Continuando con tetrasporas, la mayor liberación a $140\mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-2}$, contradijo lo esperado por Santelices (1990), el cual sugiere que la mayor liberación de propágulos se da en obscuridad o a bajas irradiancias ($\leq 1200\text{-}2000\text{ lux} \approx 32\text{-}42\mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$) y ha altas aparentemente la reducen. Tal intervalo considera principalmente ejemplos de especies que se distribuyen en el submareal somero o intermareal tropical (Umamaheswara-Rao y Subbarangaiah, 1981; Friedlander y Dawes, 1984; Umamaheswara-Rao y Kaliaperumal, 1983; Mal y Subbaramaiah, 1990; Narasimha-Rao y Subba-Rangaiah, 1991). Las diferencias con este estudio podrían explicarse por el hecho que G. pacifica habita una zona templada donde las variaciones de irradiancia y fotoperíodo en el año son marcadas, lo cual puede señalar condiciones medioambientales de luz necesarias en la liberación y rápido crecimiento de las plántulas. En cambio en zonas tropicales, las variaciones en las condiciones de temperatura y luz no presentan tales fluctuaciones y al parecer son otros factores como salinidad, cambios bruscos de irradiancia como es la suspensión de sedimento que pueden regular la liberación (Hoffman, 1987). En estas zonas la alta irradiancia que predomina podría fotoinhibir el crecimiento de las esporas, por lo tanto, es posible que dominen especies que liberen a irradiancias de penumbra (Santelices, 1990).

La ausencia de un efecto de la temperatura en la liberación de tetrasporas, es poco común en algas rojas (Friedlander y Dawes, 1984; Umamaheswara-Rao y Subbarangaiah, 1981; Umamaheswara-Rao y Kaliaperumal, 1983). Pudiera pensarse que el intervalo de experimentación fue estrecho, sin embargo cubrió la mayor parte de los niveles de temperatura que se presenta durante el año en el campo [10.2-26.3°C] (Acosta-Ruíz y Alvarez-Borrego, 1974; Celis-Ceseña y Alvarez-Borrego, 1975; Alvarez-Borrego *et al.*, 1984). No obstante, el hecho de ser un alga de distribución intermareal en una zona semiárida, puede sugerir que es resistente a estos intervalos de variación incluso diariamente y sean intervalos más amplios combinados con otros factores, como fue la irradiancia, los que regulen la liberación en esta fase.

En carposporas de marzo se registró mayor liberación entre 21-25°C y 60-140 $\mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$. La temperatura superficial registrada en el Estero en esta estación esta entre 12-16.2 °C (marzo 15.1 a 18°C) (Acosta-Ruíz y Alvarez-Borrego, 1974; Alvarez-Borrego *et al.*, 1984). Por lo tanto, se esperaría que en el campo, la liberación fuera baja debido a la baja temperatura y al bajo porcentaje de fertilidad de las plantas. En octubre, sólo la irradiancia afectó la liberación y aunque no hubo diferencias significativas entre meses se esperaría en esta época del año, la mayor liberación en el campo por la alta fertilidad de las plantas, mayor actividad metabólica y mitótica, resultado de la alta temperatura e irradiancia así como amplios períodos de luz en el día. Esto llevaría a sugerir que existe mayor liberación de esporas en el campo en octubre, pero la capacidad de liberación en invierno podría aumentarse en un cultivo, si las plantas son sometidas a un intervalo de temperatura entre 21-25°C. Sin embargo, se desconoce si la inducción a la liberación en invierno con temperatura pueda alterar el mecanismo de liberación normal y lleve a liberar esporas inmaduras, lo cual causaría baja viabilidad.

Liberación diaria:

El comportamiento de la liberación diaria, coincidió en ambos tipos de esporas siendo diferente entre febrero vs octubre. La liberación diaria en febrero (baja en el primer día), contraría a octubre (alta desde el primer día) podría indicar que el estado de madurez de las esporas de verano-otoño difiere de las de invierno, teniendo quizás las últimas menor madurez (Fig. 4 y 5). La máxima liberación entre el tercero y cuarto día se conoce para varias especies (Oza y Krishnamurthy, 1968; Pacheco-Ruiz et al., 1989). Tal similitud, pudiera ser resultado de la manipulación de las plantas en los experimentos, como se nota al comparar la liberación de carposporas de cistocarpos separados con respecto a carposporas de cistocarpos de ramas completas en Gracilaria verrucosa (Lefebvre et al., 1987; Kain y Destombe, 1995).

Liberación diurna:

La persistencia de un comportamiento diurno (un máximo y un mínimo) en la liberación de esporas, se ha reportado en varias rodofitas tropicales, donde incluso irradiancia de cero, no afecta el ritmo de liberación diurna, pero si la intensidad de liberación (Umamaheswara-Rao y Subbarangaiah, 1981; Narasimha-Rao y Subba-Rangaiah, 1991). En tetrasporas, la irradiancia afecto tanto la intensidad como el ritmo de liberación, sugiriendo la existencia de un reloj biológico diurno, regulado por la irradiancia. Sin embargo en carposporas no tuvo tal efecto.

La máxima liberación diurna en tetrasporas, fue durante las horas del inicio de la noche (6pm a 10pm). En carposporas al atardecer (2pm a 6pm) no obstante, una réplica presentó el efecto inverso (Fig. 16). Tal diferencia podría ser resultado de una variación en las condiciones de temperatura del experimento que originarían que cambiara el período de mayor liberación (Umamaheswara-Rao y Subbarangaiah, 1981). O existan relojes endógenos que produzcan tal diferencia (Wolken, 1975).

La ausencia de un patrón diurno en tetrasporas a irradiancias bajas ($16\mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$) puede atribuirse a un reloj biológico que se dispara a ciertos umbrales de irradiancia, y que por debajo de este no exista tal respuesta, como se ha detectado en Drosophila melanogaster Meigen (Barinag, 1996). Sin embargo, en carposporas no se observó tal comportamiento ya que, usando el análisis con las dos réplicas que coincidieron con la mayor liberación a las horas de luz del día, resultó sin diferencia entre los niveles de irradiancia, únicamente con la hora del día, que fue de 12-16 hr la máxima.

Sobrevivencia:

La sobrevivencia en tetrasporas sólo fue influenciada por la estación del año. El menor porcentaje fue en verano y el mayor en otoño e invierno a 20-22°C. Sin embargo, las condiciones bajo las cuales se obtuvieron los mayores porcentajes de sobrevivencia en invierno (20-25°C), no coincidieron con los reportes de temperatura in situ [10-16°C] (Acosta-Ruíz y Alvarez-Borrego, 1974; Galindo-Bect y Flores-Baez, 1982). Esto puede atribuirse, a que las tetrasporas acumulan material de reserva en esta estación, como se ha observado en tejido de Gracilaria tikvahiae para invierno (Rosenberg y Ramus, 1982), lo cual les confiere mayor recurso energético y con una temperatura adecuada, mayor viabilidad. Sin embargo, con las bajas temperaturas que se presentan en el campo, pueden originar bajo metabolismo, el cual parece necesitar cierto umbral de temperatura para ser activado. Esto explicaría que a 15°C la sobrevivencia obtenida fuera cercana a cero y, por lo tanto, pronosticar un bajo porcentaje de germinación de tetrasporas en el campo. Es decir, las tetrasporas de invierno, poseen la suficiente madurez y reserva de material para germinar e incluso tener los niveles más altos de viabilidad del año, bajo condiciones apropiadas. Lo anterior apoya la hipótesis de que las plantas, "responden, más que anticiparse", a las estaciones del año (Kain y Destombe, 1995).

Verano es la estación donde usualmente se da la mayor fertilidad en especies de Gracilaria de distribución templada (Kain y Destombe, 1995). Lo mismo se observó para G. pacifica del Estero de Punta Banda (Aguilar-Rosas *et al.*, 1993). Sin embargo, la sobrevivencia de las tetrasporas fue la más baja. Esto se atribuyó a que en verano (evaluado en septiembre), puede existir una competencia entre la alta fertilidad y las mayores tasas de crecimiento del año. Lo cual originaría una menor distribución de recursos por espora y por lo tanto un bajo porcentaje de viabilidad, como lo ha predicho DeWreede y Klinger (1988), para un organismo que presenta alta fertilidad y alta tasa de crecimiento. No obstante, dada la alta proporción de tetrasporofitos fértiles en esta estación del año, una baja sobrevivencia no llevaría a una disminución en el reclutamiento de esta fase, ya que cuando la cantidad de propágulos producidos es grande y la sobrevivencia baja, la tasa de asentamiento se mantiene alta, como se ha visto en larvas de cirripedios (Gaines y Roughgarden, 1985).

Por otro lado, Rangaiah (1984 en Kain y Destombe, 1995) ha sugerido la existencia de un patrón de mayor sobrevivencia en la época de mayor fertilidad, lo cual es a finales de verano. Esto mismo se ha reportado en Gymnogongrus furcellatus (C. Agardh) J. Agardh (Rangaiah, 1984 in Kain y Destombe, 1995). No obstante, en macroalgas, este comportamiento no se puede considerar como un patrón ya que en Porphyra columbina Montagne en Chile central, se presenta la menor sobrevivencia a inicios de primavera cuando comienza a formarse la mayor cantidad de esporas y la mayor sobrevivencia es a mediados de invierno, cuando desaparece el manto y sólo quedan los sujetadores en el fondo (Hoffman y Camus, 1989; Santelices, 1989). Esto sugiere, que el comportamiento estacional en cuanto al porcentaje de sobrevivencia, puede ser específico para cada ambiente y/o que la sobrevivencia sea resultado del balance entre formación de esporas y tasa de crecimiento, como

resultado del efecto del medio ambiente. Por lo que un análisis de la tasa de crecimiento, captación de esporas in situ, así como uno de gasto de energía en la reproducción, podrían responder estas interrogantes.

En otoño (el cual se evaluó a finales de noviembre), la temperatura e irradiancia comenzó a disminuir en el Estero de Punta Banda, así como la tasa de crecimiento y fertilidad (Aguilar-Rosas et al., 1993). Esto podría originar una mayor cantidad de recurso dirigido a la espora y explicaría la mayor sobrevivencia.

En carposporas se presentó un comportamiento similar al de tetrasporas desde primavera a otoño, por lo tanto, las esporas fueron afectadas y respondieron de la misma manera en este período. Sin embargo en carposporas, el efecto de la temperatura fue significativo al menos en verano y otoño, con mayor sobrevivencia entre 20-22°C. En invierno, las carposporas presentaron sobrevivencias notablemente menores respecto a las tetrasporas, quizá como resultado de que fueron liberadas a una mayor temperatura de la que se da en el campo (20°C).

En el experimento de invierno, se obtuvo una sobrevivencia a 15°C cercana a cero en ambos tipos de esporas. Dado el comportamiento de la sobrevivencia estacional con respecto a la temperatura de 18°C, temperaturas inferiores a 15°C pueden ser consideradas letales para las esporas que son liberadas y mantenidas en tales condiciones.

La mayor sobrevivencia en el año en tetrasporas fue de 34% en tetrasporas y 28.8% en carposporas. Esta sobrevivencia fue baja si la comparamos con Gracilaria verrucosa (Hudson) Papenfuss que tiene reportado un máximo de 86% (Destombe et al., 1993), Gelidium chilense (Montagne) Santelices y Montalva 74.6%, Gymnogongrus furcellatus (C. Agardh) J. Agardh 96%, Lessonia nigrescens Bory 94%, Nothogenia fastigiata (Bory) Parkinson 90%, Porphyra columbina Montagne 84.7%, Ulva rigida C. Agardh 94.5% (Hoffman y

Camus, 1989). Esta notoria diferencia, podría atribuirse a la metodología utilizada, sin embargo, la única diferencia con respecto al presente trabajo, fue el medio utilizado, ya que para los trabajos de Hoffman y Camus (1989) utilizaron medio de SWM3 de McLachlan, 1973, y dejaron 24 hr liberando, sin agregar ni antibióticos ni GeO_2 . Destombe y colaboradores (1993) utilizaron como medio ASP6F modificado por Bodard, 1973, dejando liberando por 2 días, sin agregar ni antibióticos ni GeO_2 . Por otro lado, Scrosati *et al.*, (1994), reporta sobrevivencias máximas de 26% para Chondrus crispus Stackhouse, utilizando medio von Stosch y 5 mg/l de GeO_2 . La composición de los medios es en esencia la misma, pero la adición de GeO_2 y antibióticos podría dar origen a una diferencia en la sobrevivencia. Sin embargo en tetrasporas, quizá sea necesario generar más información al respecto ya que Pacheco-Ruíz y colaboradores (1993) reportan en verano un valor similar de sobrevivencia que los del presente estudio sin utilizar GeO_2 ni antibióticos. Esto permite concluir que los bajos valores de sobrevivencia pudieran ser atribuidos a la naturaleza de la planta en las condiciones de laboratorio.

No se detectaron variaciones significativas entre la semana seis y ocho al evaluar la sobrevivencia, por lo que el considerar el porcentaje de germinación a la semana seis, es suficiente para obtener un valor confiable de sobrevivencia en esta especie.

Fijación:

La mayor fijación de tetrasporas en octubre, en relación directa con la temperatura quizás obedezca a un aumento del metabolismo celular, el cual favoreció la fijación. Y la diferencia entre meses (febrero vs octubre) sea un reflejo de la constitución química de la espora (Fig. 16).

En carposporas, la mayor fijación se dió a mayor temperatura pero a la menor irradiancia. Santelices (1990), menciona que la liberación de esporas suele ser común a bajas irradiancias. Lo

anterior favorece la fijación ya que al ser recién liberadas, no presentan un aparato fotosintético eficiente, y por tanto sus actividades metabólicas se favorecen a bajas irradiancias, como fue en este caso, donde se combinó la máxima liberación a $60-140 \mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ y la máxima fijación entre $0-16 \mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$. Sin embargo, a pesar de que no existe mucha información al respecto, este comportamiento quizás no sea un patrón común en algas, ya que, las conchosporas de Porphyra yezoensis (Ueda) disminuyen su capacidad de fijación abajo de 1500 lux ($\approx 30 \mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$) e incluso en oscuridad total no se adhieren al sustrato (Shiying *et al.*, 1979).

La menor fijación por día para ambos tipos de esporas en el primer día y su aumento hasta mantenerse entre el día 3 y 4, quizá sea resultado del manejo de las plantas y origine que las primeras esporas que se liberan estén dañadas por acción mecánica del manipuleo al menos para tetrasporas.

Estas variaciones apoyan el hecho de que la fijación, es un proceso activo a nivel celular y no sólo una característica inherente de lo adhesivo que pueda ser el mucílago (Apple y Harlin, 1995).

Tamaño:

No se encontró un patrón de variación mensual en el diámetro de las esporas. Sin embargo, el significativamente mayor tamaño de las carposporas con respecto a las tetrasporas coincidió con la relación mayor volumen celular-mayor tamaño del genoma que se ha visto en células procariotas y eucariotas (Goff y Coleman, 1987). Así también, el diámetro promedio de tetrasporas y carposporas (26.59 y $28.8 \mu\text{m}$) fue similar a los reportados para otras especies de Gracilaria (Ngan y Price, 1979).

Propuesta para la liberación y fijación controlada de esporas de Gracilaria pacifica:

La colecta de plantas en reproducción, se puede realizar durante todo el año en el Estero de Punta Banda, B.C. Las características para la selección de plantas reproductivamente

maduras en el campo serán; tetrasporofitos: Plantas con una superficie suave a lo largo del talo y una base en promedio más gruesa que del resto de la población, de color ambar claro. Carposporofitos: Plantas que presenten a lo largo del talo, protuberancias semiesféricas (entre 1 a 3mm de diámetro) con un orificio en el ápice. Las plantas serán transportadas al laboratorio en hieleras, donde se limpiaran de epífitas y sedimento con la ayuda de una escobeta, usando para enjuagarlas agua de mar filtrada a $0.45\mu\text{m}$. Después, se seleccionara la parte reproductiva de la planta y se pondrá sobre un bastidor cubierto de malla. Este se suspenderá dentro de una charola (50x40 cm de área y 20 cm de profundidad), cerca de la superficie y habra otro bastidor abajo sobre 5 cm del fondo, enrollado con hilo nylon de 3 mm de diámetro donde se hará la inoculación de las esporas. La charola se llenará con agua de mar filtrada a $0.45\mu\text{m}$ y pasada por U.V. la cual se fertilizará con $250\mu\text{M}$ de N y $25\mu\text{M}$ de P por litro y de preferencia se agregará 35 mg/l de GeO_2 para control de diatomeas, utilizando burbujeo constante y lámparas de luz de día para dar $60\mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$. El tiempo que las plantas se mantendran liberando sería de 2 días en verano y 3 en invierno para después retirar la planta. Se deberá mantener el agua superior a 20°C (con la ayuda de un calentador de acuario). Para seguir el proceso de densidad, fijación y germinación de esporas en el laboratorio, se podrán dejar 5 portaobjetos distribuidos al azar en el fondo y estarlos monitoreando. Se recomienda dejar las carposporas en penumbra un día después de quitar la planta, para favorecer la fijación; en las tetrasporas se continuaría con la misma irradiancia. Cada semana se realizará la limpieza y cambios de agua de las charolas (Fig. 21)

PROPUESTA PARA LA LIBERACIÓN Y FIJACIÓN CONTROLADA DE ESPORAS DE Gracilaria pacifica.

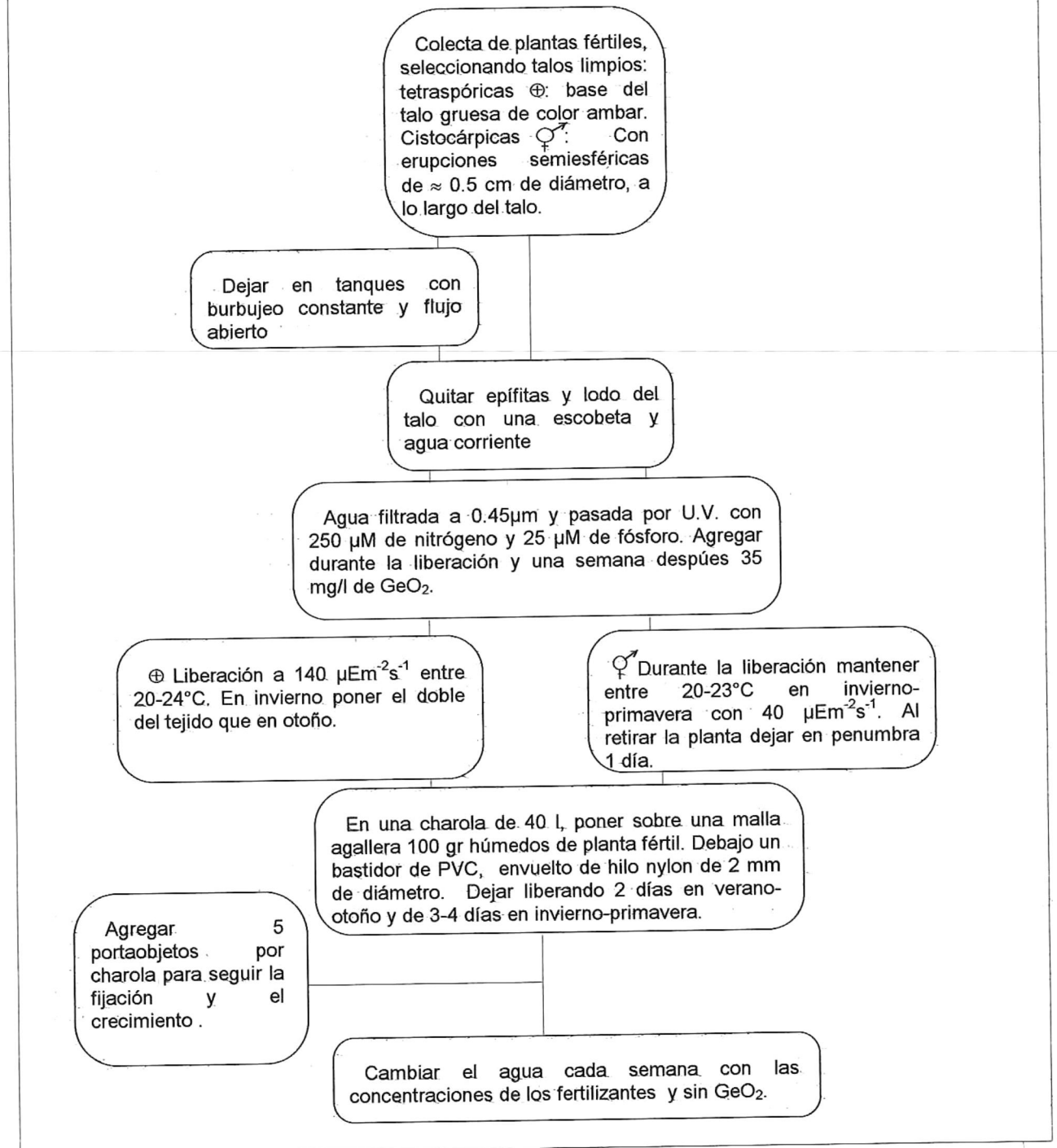


Fig. 21: Diagrama de flujo para la propuesta de la liberación y fijación controlada de esporas de G. pacifica.

CONCLUSIONES:

♣ La influencia de los factores ambientales en la liberación, sobrevivencia y fijación entre tetrasporas y carposporas es diferente.

♣ La liberación se da todo el año. En tetrasporas fue mayor en verano-otoño y un efecto directamente proporcional con la irradiancia. En cambio en carposporas, la mayor liberación fue estimulada por las mayores temperaturas (21-25°C) en invierno.

♣ La liberación diurna de tetrasporas, tendió a presentar los máximos a las horas del día; y en carposporas a inicios de la noche.

♣ Existió un mayor porcentaje de sobrevivencia en tetrasporas de invierno entre 20-25°C y menor en verano. En cambio, en carposporas se presentaron dos máximos; en primavera y otoño.

♣ Para ambos tipos de esporas, el mayor porcentaje de sobrevivencia se dió entre 18-25°C y es afectado significativamente por debajo de este. No existió un efecto significativo de la irradiancia.

♣ La fijación en tetrasporas fue estimulada por las mayores temperaturas que fueron de 21 a 25°C, con un porcentaje de fijación mayor en octubre. En cambio la mayor fijación de carposporas, fue estimulada por las menores irradiancias, sin una variación significativa en el año.

♣ Existe una diferencia significativa entre el diámetro de tetrasporas (promedio $26.59 \pm 1.76\mu\text{m}$) y carposporas (promedio 28.90 ± 2.49).

BIBLIOGRAFÍA

ACOSTA RUIZ M. de J. y S. ALVAREZ BORREGO. 1974. Distribución superficial de algunos parámetros hidrológicos físicos y químicos en el Estero de Punta Banda, B.C. en otoño e invierno. *Ciencias Marinas*. 1(1). 17-45.

AGUILAR-ROSAS, R., R. MARCOS-RAMIREZ, J.M. LOBO-NIEMBRO, J.A. ZERTUCHE-GONZALEZ. 1993. Variación estacional de fases reproductoras y vegetativa de Gracilaria pacifica Abbot, en el Estero de Punta Banda, Baja California, México. *Ciencias Marinas*. 19(2): 219-228.

AGUILAR ROSAS, R. y M.A. AGUILAR ROSAS. 1994. Estudio florístico de las algas marinas bentónicas del ejido San José, Baja California, México. *Ciencias Marinas*. 20(4): 511-534.

ALVAREZ BORREGO, S., A. GRANADOS GUZMAN, J.L. BELTRAN FELIX. 1984. Temperatura y salinidad en el Estero de Punta Banda: 1982-1983. *Ciencias Marinas*. 10(3). 105-108.

APPLE M.E. y M.M. HARLIN. 1995. Inhibition of tetraspore adhesion in Champia parvula (Rhodophyta). *Phycol.* 34(5). 417-423.

AVILA, M., R. NORAMBUENA y R. OTAIZA. 1994. Applied phycology in Chile: Red Seaweeds. *A. Phycol. Forum*. 11(3). 2-3.

AVILA LAGOS, M., M. SEGUEL LIZAMA, H. PLAZA LOPEZ, E. BUSTOS ROJAS, R. OTAIZA O'RYAN. 1994. Estado de situación y perspectivas de la acuicultura en Chile. *Reporte técnico SGI-IFOP* 94/1. Chile. 166 pp.

BARINAG, M. 1996. Researchers find the reset button for the fruit fly clock. **Science**. 271: 1671-1672.

BOLD, H.C. y M.J. WYNNE. 1978. **Introduction to the algae**. Prentice-Hall, New Jersey. 706 pp.

CELIS CESEÑA, R. y S. ALVAREZ BORREGO. 1975. Distribución superficial de algunos parámetros hidrológicos físicos y químicos en el Estero de Punta Banda, B.C. en primavera y verano. **Ciencias Marinas**. 2(1). 98-105.

DESTOMBE, C., J. GODIN, M. NACHER, S. RICHERD y M. VALERO. 1993. Differences in response between haploid and diploid isomorphic phases of Gracilaria verrucosa (Rhodophyta: Gigartinales) exposed to artificial environmental conditions. **Hydrobiologia** 260/261: 131-137.

DESTOMBE, C., J. GODIN, CL. LEFEBVRE, O. DEHORTER, PH. VERNET. 1992. Differences in dispersal abilities of haploid and diploid spores of Gracilaria verrucosa (Gracilariales, Rhodophyta). **Bot. Mar.** 35: 93-98.

DeWREEDE, R. y T. KLINGER. 1988. Reproductive strategies in algae. In LOVETT-DOUST, J y L. LOVETT-DOUST (eds.). **Plant reproductive ecology: Patterns and strategies**. Oxford University Press. Oxford. 267-284.

DRING, M.J. 1988. Photocontrol of development in algae. **Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.** 39: 157-174.

FLETCHER, R.L. y M.E. CALLOW. 1992. The settlement, attachment and establishment of marine algal spores. **Br. Phycol. J.** 27: 303-329.

FRIEDLANDER M. y C.J. DAWES. 1984. Studies on spore release and sporeling growth from carpospores of Gracilaria foliifera (Forsskal) Borgesen var. angustissima (Harvey) Taylor. I. Growth responses. **A. Bot.** 19: 221-232.

GAINES, S. y J. ROUGHGARDEN. 1985. Larval settlement rate: a leading determinant of structure in an ecological community of the marine intertidal zone. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.** 82: 3707-3711.

GALINDO BECT, S. y B.P. FLORES BAEZ. 1982. Hidrología comparativa en la boca de dos sistemas antiestuarinos de Baja California durante otoño e invierno. **Ciencias Marinas.** 8(1): 97-108.

GOFF, L. y A.W. COLEMAN. 1987. The solution to the cytological paradox of isomorphy. **J. Cell Biol.** 104:739-748.

HOFFMANN A.J. 1987. The arrival of seaweeds propagules at the shore: a review. **Bot. Mar.** 30: 151-165.

HOFFMAN, A.F. y P. CAMUS. 1989. Sinking rates and viability of spores from benthic algae in central Chile. **J. Exp. Mar. Ecol.** 126: 281-291.

KAWASHIMA, S. 1993. Cultivation of the brown alga, Laminaria "Kombu". En Ohno, M. y A. T. Critchley. **Seaweed cultivation and marine ranching.** JICA. Japón. 7-15.

KAIN (JONES), J.M. y C. DESTOMBE. 1995. A review of the life history, reproduction and phenology of Gracilaria. In KAIN (JONES), J.M. (Ed.). Gracilaria and its cultivation. **J. Appl. Phycol.** 7: 269-281.

KLINGER T. 1993. The persistence of haplodiploidy in algae. **Trends Ecol. Evol.** 8(7): 256-258.

LEFEBVRE, Cl. A., C. DESTOMBE, J. GODIN. 1987. Le fonctionnement du carposporophyte de Gracilaria verrucosa et ses répercussions sur la stratégie de reproduction. **Cryptogamie, Algologie.** 8(2): 113-126.

LOBBAN, C.S. y P.J. HARRISON. 1994. **Seaweed ecology and physiology.** Cambridge. New York. 366 pp.

LUBCHENCO, J. y J. CUBIT. 1980. Heteromorphic life histories of ceryain marine algae as adaptations to variations in herbivory. **Ecology.** 61(3): 676-687.

MAL, T.K. y K. SUBBARAMAIAH, 1990. Diurnal periodicity of carpospores shedding in the red alga Gracilaria edulis (Gmel.) Silva (Rhodophyta). **Indian J. Mar. Sci.** 19: 63-65.

MANLY, B.J. 1991. **Multivariate statistical methods a primer.** Chapman&Hall. London. 159 pp.

MIURA, A. 1975. Porphyra in Japan. In Tookida J. y H. Hirose (Eds.). **Advance of phycology in Japan.** Gustav Fisher Verland Jena. 273-304.

MUÑOZ A.A. y B. SANTELICES. 1994. Quantification of the effects of sporeling coalecscens on the early development of Gracilaria chilensis (Rhodophyta). **J. Phycol.** 30: 387-392.

NARASIMHA RAO, G.M. y G. SUBBA RANGIAIAH. 1991. Control of spore shedding from some marine algae of the Visakhapatnem Coast, India. **Br. Phycol. J.** 26: 353-360.

NGAN, Y. y I.R. PRICE. 1979. Systematic significance of spore size in the Florideophyceae (Rhodophyta). **Br. Phycol. J.** 14: 285-303.

NGAN, Y. y I.R. PRICE. 1983. Periodicity of spore discharge in tropical Florideophyceae (Rhodophyta). **Br. Phycol. J.** 18: 83-95.

OHNO, M. 1993. Cultivation of the green alga, Monostroma and Enteromorpha "Aonori". En Ohno, M. y A. T. Critchley. **Seaweed cultivation and marine ranching**. JICA. Japón. 7-15.

OHNO, M. y M. MATSUOKA. 1993. Undaria cultivation "Wakame". En Ohno, M. y A. T. Critchley. **Seaweed cultivation and marine ranching**. JICA. Japón. 7-15.

OOHUSA, T. 1993. The cultivation of Porphyra "Nori". En Ohno, M. y A. T. Critchley. **Seaweed cultivation and marine ranching**. JICA. Japón. 7-15.

OZA, R.M. y V. KRISHNAMURTHY. 1968. Studies on carposporic rhythm of Gracilaria verrucosa (Huds.) Papenf. **Bot. Mar.** 11(1-4). 118-121.

PACHECO RUIZ, I, Z. GARCIA EZQUIVEL y L. AGUILAR ROSAS. 1989. Spore discharge in the carragenophyte Gigartina canaliculata Harvey (Rhodophyta, Gigartinales). **J. Exp. Mar. Biol. Ecol.** 126: 293-299.

PACHECO-RUIZ, I., J.A. ZERTUCHE-GONZALEZ y R. AGUILAR-ROSAS. 1993. Ecología reproductiva de Gracilaria pacifica Abbott (Gracilariales, Rhodophyta) en el Estero de Punta Banda, México. **Ciencias Marinas**. 19(4): 491-501.

ROSENBERG, G. y J. RAMUS. 1982. Ecological growth strategies in the seaweeds Gracilaria foliifera (Rhodophyceae) and Ulva sp. (Chlorophyceae): soluble nitrogen and reserves carbohydrates. **Mar. Biol.** 66: 251-259.

ROMO DONOSO, H. 1988. Cultivo de algas mediante esporas. **Invest. Pesq.** 35: 89-98.

SANTELICES, B. 1989. **Algas marinas de Chile**. Universidad Católica de Chile. 399 pp.

SANTELICES, B. 1990. Patterns of reproduction, dispersal and recruitment in seaweeds. **Oceanogr. Mar. Biol. Annu. Rev.** 28: 177-276.

SCROSATI, R., D.J. GARBARY y J. McLACHLAN. 1994. Reproductive ecology of Chondrus crispus (Rhodophyta, Gigartinales) from, Nova Scotia, Canada. **Bot. Mar.** 37: 293-300.

SHIYING, L., C. GUANGFA, F. XIUGENG. 1979. The influence on the adherence of the conchospores of Porphyra yezoensis. **Oceanol. Limnol. Sin.** 10(2). 186.

TOMA, T. 1993. Cultivation of the brown alga, Cladosiphon okamuranus "Okinawa-mozuku". En Ohno, M. y A. T. Critchley (eds.). **Seaweed cultivation and marine ranching**. JICA. Japón. 7-15.

TRONO, G.C. y T. TOMA. 1993. Cultivation of the green alga. Caulerpa lentillifera. En Ohno, M. y A. T. Critchley. **Seaweed cultivation and marine ranching**. JICA. Japón. 7-15.

UMAMAHESWARA RAO M. y N. KALIAPERUMAL. 1983. Effects of environmental factors on the liberation of spores from some red algae of Visakhapatnam coast. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 70: 45-53.

UMAMAHESWARA RAO M. y G. SUBBARANGAIAH. 1981. Effects of environmental factors on the diurnal periodicity of tetraspores of some Gigartinales (Rhodophyta). In LEVRING T (Ed.). *Intn. Seaweeds Symp.* Walter de Gruyter, Berlin. 10:209-214.

VALERO, M., S. RICHERD, V. PERROT y C. DESTOMBE. 1992. Evolution of alternation of haploid and diploid phases in life cycles. *Trends Ecol. Evol.* 7(1):25-29.

WHYTE, J.N.C., J.R. ENGLAR, J.C. LINDSAY. 1981. Seasonal variations in the biomass, quantity and quality of agar, from the reproductive and vegetative stages of *Gracilaria (verrucosa)* type). *Bot. Mar.* 24: 493-501.

WINER, B.J., D.R. BROWN, K.M. MICHELS. 1991. **Statistical principles in experimental design.** 3rd. McGraw-Hill. New York. 1057 pp.

WOLKEN, J.J. 1975. **Photoprocesses, photoreceptors, and evolution.** Academic Press. New York. 317 pp.

YOUNG, C.M. 1990. Larval ecology of marine invertebrates: a sesquicentennial history. *Ophelia*. 32(1-2): 1-48

ZAR, J.H. 1984. **Biostatistical analysis.** 2nd Prentice-Hall, Englewood Cliffs, New Jersey. 718pp.

ZERTUCHE-GONZALEZ, J.A. 1990. Macroalgas y el desarrollo de su cultivo. En DE LA ROSA-VELEZ J. y F. GONZALEZ-FARIAS

(Eds). **Temas de oceanografía biológica en México**. Universidad Autónoma de Baja California. Ensenada. 319-337

ZERTUCHE-GONZALEZ, J.A. 1994. Situación actual de la industria de las algas marinas productoras de ficocoloides en México. En Zertuche-González, J.A. (Ed.) **Situación actual de la industria de macroalgas productoras de ficocoloides en America Latina y el Caribe**. FAO. México. 33-37.

ZERTUCHE-GONZALEZ, J.A. y J. GARCIA EZQUIVEL. 1994. Promoción del cultivo del alga Gracilaria en México. En Zertuche-González, J.A. (Ed.) **Situación actual de la industria de macroalgas productoras de ficocoloides en America Latina y el Caribe**. FAO. México. 47-56.